8.28
Hb 4. 9. 31

R50097

Mikroskopische Technik

zum Gebrauch

bei

medicinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen

von

Prof. Dr. Carl Friedlaender.

ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS, EDIN. LIBRARY.

Sechste vermehrte und verbesserte Auflage

bearbeitet von

Prof. Dr. C. J. Eberth

in Halle.

Mit 86 Abbildungen im Texte.

BERLIN W. 35
FISCHER's MEDICINISCHE BUCHHANDLUNG
H. Kornfeld.
1900.

Vorwort zur vierten Auflage.

Bei Umarbeitung von Friedlaender's mikroskopischer Technik war es vor Allem mein Bestreben, den neuesten Fortschritten auf diesem Gebiete Rechnung zu tragen, soweit sie besonders für pathologisch-anatomische Untersuchungen Anwendung finden. Die Technik des Schneidens und Zeichnens, die verschiedenen Einbettungen, die Abschnitte über Spaltpilze, Färbungsmethoden und Anderes sind nicht nur wesentlich ergänzt, sondern zum Theil neu bearbeitet, wobei in erster Linie auf die bereits erprobten Verfahren Bedacht genommen wurde. Ausserdem sind dieser Auflage mehrere Abbildungen der wichtigsten Apparate und Utensilien beigegeben.

Die Darstellung der Ehrlich'schen Methoden der Blutuntersuchung hat Herr Dr. Gollasch in Berlin gefälligst übernommen.

Halle, im Juni 1889.

Eberth.

Vorwort zur fünften Auflage.

Bei der Bearbeitung der neuen Auflage der mikroskopischen Technik, deren Vollendung sich leider durch anderweitige Verpflichtungen des Verf. in unliebsamer Weise verzögerte, hatte Derselbe nicht nur die Bedürfnisse der Anfänger, sondern auch diejenigen der in pathologisch-histologischen Untersuchungen bereits Geübteren im Auge.

Fast alle Kapitel sind den neuesten Forschungen der Technik entsprechend umgearbeitet und erweitert. Auch die Mikrophotographie hat in einem besonderen Kapitel, dessen Bearbeitung ich der Freundlichkeit des in diesem Zweig der Technik sehr erfahrenen Herrn Dr. Braunschweig, Privatdocent der Ophthalmologie an der Universität Halle verdanke, Berücksichtigung gefunden. Über die verschiedenen Reproductionsverfahren mikroskopischer Bilder giebt ein Kapitel eine orientirende Übersicht.

Die Abbildungen sind wesentlich vermehrt und durch neue ersetzt, wofür ich z. Th. den optischen Instituten von Zeiss und Hartnack, der Verlagshandlung von Knapp in Halle, der Firma Miehe in Hildesheim. Becker in Göttingen, Jung in Heidelberg, Schanze in Leipzig u. A. für die Überlassung von Clichés zu grossem Dank verpflichtet bin.

Von Mikroorganismen sind die wichtigsten nach Originalen, welche von mir nach Präparaten und Mikrophotogrammen ausgeführt wurden. zinkographiert und z. Th. in Farben wiedergegeben. Diese Darstellung wurde gewählt, weil sie für die typischen Formen ausreichend schien und zugleich eine Aufnahme der Figuren in den Text gestattete.

Oberstdorf, im September 1893.

Eberth.

Vorwort zur sechsten Auflage.

In der vorliegenden Auflage der „Mikroskopischen Technik" haben die seit dem Erscheinen der letzten Auflage gewonnenen Erfahrungen möglichst Berücksichtigung gefunden. Die sämmtlichen Kapitel sind durchgesehen und ergänzt, einzelne grösstentheils umgearbeitet. War eine Vermehrung des Textes auch nicht zu umgehen, so konnte doch durch häufigere Verwendung eines kleineren Drucks wie durch Kürzungen eine zu starke Überschreitung des früheren Umfangs vermieden werden..

Halle, im Mai 1899.

Eberth.

Inhalts-Uebersicht.

Erster Abschnitt.

Mikroskop und dessen Nebenapparate.

Mikroskop.

Seite

1. Kapitel: **Bestandtheile des Mikroskops** 1
   1. Stativ, Abbe'scher Apparat 1
   2. Objectivsysteme, Wasser- und Oel-Immersionen 3
   3. Oculare. Nebenapparate. Combinationen 5
   Bestimmung der Vergrösserung des Mikroskops 9
2. Kapitel: **Utensilien und Instrumente** 10
   1. Beleuchtungslampe (Schusterkugel) 10
   2. Glasapparate und andere Geräthe 12
   Reinigung der Gläser 16
   3. Metallinstrumente 17
3. Kapitel: **Mikrochemische Untersuchungen und Reagentien** . . . 18
   1. Destillirtes Wasser 18
   2. Kochsalzlösung. Indifferente Zusatzflüssigkeit 19
   3. Alkohol 19
   4. Aether. Chloroform (Entfettung) 21
   5. Säuren 22
   6. Alkalien 24

Zweiter Abschnitt.

Untersuchungsmethoden.

1. Kapitel: **Das frische und lebende Object** 27
   Amöboide Zellen. Kreislauf, Entzündung 31
   a) bei Kaltblütern 31
   b) bei Warmblütern 33
   Untersuchung von Flüssigkeiten 34
   Das Centrifugiren 35
   Deckglastrockenpräparat 35
2. Kapitel: **Isoliren, Maceriren** 35
   Künstliche Verdauung 38

Seite
3. Kapitel: **Fixiren** 40
Einfache Fixirungsflüssigkeiten 41
Zusammengesetzte Fixirungsflüssigkeiten. Zwei- und mehrfache Mischungen 45
Fixiren durch Hitze, Kälte, Trocknen 53
4. Kapitel: **Härten** 54
Das Kochen 54
Das Trocknen 55
Das Gefrieren 55
5. Kapitel: **Entkalken** 56
6. Kapitel: **Injektion** 60
a) Injektionsmasse. Kaltflüssige Masse 60
Warmflüssige Masse 62
b) Injektionsapparat 63
Die physiologische Injektion 66
7. Kapitel: **Einklemmen, Aufkleben, Umranden, Umgiessen, Durchtränken, Einbetten** 67
Durchtränkung mit Gummi, Leim, Eiweiss, Seife 69
Durchtränkung mit Celloidin oder Collodium 70
Durchtränkung mit Photoxylin 72
Paraffineinbettung 73
Kombination der Celloidin- und Paraffindurchtränkung 75
8. Kapitel: **Schneiden, Mikrotome** 76
Schneiden 76
Mikrotome 80
Dicke und düne Schnitte 90
Schneiden der Celloidinpräparate 90
Schneiden der Paraffinpräpararate 91
Weitere Behandlung der Schnitte 92
Serienschnitte 94
Aufkleben von Serienschnitten 100
9. Kapitel: **Färben und Entfärben** 103
Technik des Färbens. Vorbereitung 105
Färbung von Schnitten und ganzen Stücken 106
Doppel- und Mehrfachfärbung 107
Nachbehandlung (Entfärben, Differenziren) 107
Farbstoffe. a) Substantive Färbungen 108
Einfache Färbung 120
Zweifache Färbung 120
Dreifache Färbung 125
b) Adjektive Färbungen 126
Vitale Methylenblaufärbung (Ehrlich) 129
10. Kapitel: **Metallimprägnation** 130
11. Kapitel: **Aufhellen der Präparate** 136
12. Kapitel: **Aufbewahren und Einschliessen der Präparate** 140
13. Kapitel: **Messen, Zeichnen, Malen, Camera lucida** 147
14. Kapitel: **Mikrophotographie** 152
15. Kapitel: **Vervielfältigungsverfahren** 164

Seite

Dritter Abschnitt.

Specieller Theil.

Zelle und Kern.

1. Kapitel: **Untersuchung entzündeter und wuchernder Gewebe** . . 171
2. Kapitel: **Nekrose, Atrophie, Degeneration** 174
3. Kapitel: **Nachweis und Färbung der Spaltpilze** 185
4. Kapitel: **Untersuchung von Spross- (Hefe-) und Schimmelpilzen** . . 237
5. Kapitel: **Untersuchung thierischer Parasiten** 238
6. Kapitel: **Untersuchung der Bindesubstanzen** 242
7. Kapitel: **Untersuchung des Knochensystems** 249
8. Kapitel: **Untersuchung der Muskeln, Sehnen, Schleimbeutel** . . 251
9. Kapitel: **Untersuchung des Nervensystems** 252
Untersuchung des Centralnervensystems 252
Untersuchung des peripherischen Nervensystems 284
10. Kapitel: **Untersuchung der Haut** 288
11. Kapitel: **Untersuchung des Auges** 290
12. Kapitel: **Untersuchung des Gehörorgans, Geschmackorgans, Geruchsorgans** 292
13. Kapitel: **Untersuchung des Blutes** 293
14. Kapitel: **Untersuchung des Gefässapparates** 320
15. Kapitel: **Untersuchung des Respirationsapparates und des Sputums** 320
16. Kapitel: **Untersuchung des Darms** 331
17. Kapitel: **Untersuchung der Leber und des Pankreas** 332
18. Kapitel: **Untersuchung der Milz, Lymphdrüsen, Schilddrüse, Carotisdrüse, Nebennieren** 333
19. Kapitel: **Untersuchung der serösen Membranen** 334
20. Kapitel: **Untersuchung der Harnorgane und des Harns** 336
21. Kapitel: **Untersuchung der Geschlechtsorgane** 340

Erster Abschnitt.

Mikroskop und dessen Nebenapparate.

Mikroskop.

Bei der Wahl eines Mikroskops ist zu beachten, dass die Linsen und das Stativ vollkommen tadelfrei sein müssen. Man lasse sich nicht durch einen etwas niedrigeren Preis dazu verleiten, ein Instrument von geringerer Qualität zu kaufen, sondern wähle von vornherein ein solches von einer renommirten, zuverlässigen Werkstatt — am besten gleich ein mittelgrosses oder grosses Stativ mit Condensor, Irisblende und Revolver, welche für schwierigere Untersuchungen nicht zu entbehren sind.

Dagegen ist es durchaus nicht erforderlich, gleich zu Anfang die stärksten Objektivsysteme anzuschaffen. Dem Anfänger genügen für die erste Zeit schwache und mittlere Vergrösserungen, bis etwa 300; die Handhabung der noch stärkeren Linsen verlangt eine peinliche Genauigkeit, dass es entschieden gerathen ist, sich erst durch längeres Arbeiten mit schwächeren Vergrösserungen darauf vorzubereiten.

1. Kapitel.

Bestandtheile des Mikroskops.

I. Stativ, Abbe'scher Apparat.

Das Stativ muss, wie schon bemerkt, so eingerichtet sein, dass es auch für die stärksten Systeme noch brauchbar ist, besonders muss der Gang der Mikrometerschraube genügend fein sein; der Tisch gross, solide und feststehend, dessen Oeffnung nicht zu klein, so dass z. B. ein Rückenmarksquerschnitt (bei schwacher Vergrösserung und herausgenommener Blendung) noch in toto untersucht werden kann. Die Einrichtung zum Umlegen des Stativs mit Charnier ist nicht absolut nothwendig, gewährt aber manche Erleichterung beim Arbeiten.

Die Cylinderblendungen (die Scheibenblendungen sind weniger vollkommen) müssen selbstverständlich exakt centrirt und leicht zu wechseln sein.

Bei ungefärbten Objekten wendet man enge Blendungen an, um die Strukturen bei stärkerer Vergrösserung scharf zur Anschauung zu bringen; für schwache Vergrösserungen ist es nothwendig, eine weitere Blendung einzusetzen, wenn man das volle Gesichtsfeld ausnützen will.

Für alle Fälle wünschenswerth und für Untersuchungen auf Schizomyceten nothwendig ist ein Condensor resp. ein Abbe'scher Apparat, und zwar aus folgenden Gründen: Die von dem Spiegel auf die Linse des Condensors geworfenen Lichtstrahlen werden durch diese so gebrochen, dass sie sämmtlich in einen Punkt (Brennpunkt) zusammenlaufen; dieser Punkt liegt nun genau an der Stelle des Objekts. Auf diese Weise erhält das Objekt eine colossale Menge von Licht, und zwar nicht nur, wie bei der gewöhnlichen Untersuchung mit engem Diaphragma ein Bündel annähernd paralleler Strahlen, sondern einen ganzen Kegel von möglichst grossem Oeffnungswinkel, in dessen Spitze eben das Objekt gelegen ist. Dadurch gehen die feinen Conturen des transparenten Objekts, soweit sie auf Unterschieden des Lichtberechnungsvermögens beruhen, fast vollständig verloren, die Conturen (das Strukturbild) werden (nach dem Ausdrucke Koch's) ausgelöscht. Um so schärfer treten die gefärbten Parthien des Objekts hervor (Isolirung des Farbenbildes, Koch), welche durch die Conturen der nicht gefärbten Theile vorher theilweise oder ganz verdeckt wurden. So gelingt es durch die Untersuchung mit dem offenen Condensor sehr oft, intensiv gefärbte Mikroorganismen (oder sonstige kleine, gefärbte Körper) als solche zu erkennen, die bei gewöhnlicher Beleuchtung durch das Strukturbild verdeckt werden und deshalb nur undeutlich oder selbst gar nicht erkennbar sind. Der Oeffnungswinkel des Lichtkegels beträgt bei dem Condensor des Abbe'schen Apparats 120°, die früher angefertigten Condensoren geben gewöhnlich einen viel kleineren Winkel und reichen daher nicht aus. Unter der Linse des Condensors befindet sich eine Scheibe mit verschieden grossen, zu wechselnden Diaphragmen oder besser noch eine sogenannte Irisblende. Bei Anwendung eines engen Diaphragmas erhält man selbstverständlich eine ganz ähnliche Beleuchtung, wie bei einer engen Cylinderblende; zur Isolirung des Farbenbildes werden die Blendungen vollständig entfernt. Die Benutzung der offenen Condensorbeleuchtung ist demnach für alle gefärbten Präparate von sehr grossem Nutzen, für viele schwierige Untersuchungen sogar unentbehrlich; die Einführung dieser Methode verdanken wir Koch.[1])

Kann der Anfänger den Abbe'schen Condensor wohl entbehren, weil er wesentlich nur für feinere Untersuchungen und starke Vergrösserungen zur Verwendung kommt, so ist es doch am besten, ihn gleich mit anzuschaffen.

---

[1]) R. Koch, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten. Leipzig, 1878.

2. Objektivsysteme. Wasser- und Oel-Immersionen.

An Objektivsystemen sind erforderlich:

1. Ein ganz schwaches, von etwa 30 mm äquivalenter Brennweite, welches mit dem mittleren Ocular eine Vergrösserung von etwa 20 giebt — zur Totalübersicht grosser Schnitte.
2. Ein mittelschwaches, von etwa 15 mm äquivalenter Brennweite zur Erzielung einer etwa 60—90fachen Vergrösserung.
3. Ein mittelstarkes, von etwa 4 mm äquivalenter Brennweite, für 300fache Vergrösserung.
4. Ein starkes Immersionssystem, äquivalente Brennweite 1,5—2 mm ($^1/_{18}$—$^1/_{12}$ Zoll), für feinere Untersuchungen.

Gewöhnlich wird für unsere Zwecke die 80fache und die 300fache Vergrösserung am meisten gebraucht werden; die Immersionslinse ist für Untersuchungen von Schizomyceten und feineren Objekten unentbehrlich.

Die Immersionssysteme,[1]) welche zur Erzielung ganz starker Vergrösserungen in Anwendung kommen, erfordern in ihrer Handhabung eine gewisse Sorgfalt und Uebung. Der Anfänger wird am besten thun, für die erste Zeit auf sie zu verzichten. Die Vortheile der Immersion bestehen in Folgendem: Bei dem Uebergange der Strahlen von der oberen Fläche des Deckglases in die Luft und weiterhin von der Luft in die untere Fläche der Objektivlinse des Mikroskops werden nur diejenigen Strahlen nicht alterirt, welche die betreffenden Flächen senkrecht treffen; die schief auffallenden Strahlen werden in ihrem Gange verändert, und zwar um so mehr, je spitzer der Winkel ist, in dem sie auffallen. Nennen wir nun den Oeffnungswinkel eines Objektivsystems denjenigen Winkel, den die von dem Objektpunkt nach dem äussersten Rande der Linse gehenden, divergirenden Strahlen (die über dem Objektiv in einem Bildpunkt wieder vereinigt werden) miteinander bilden, so ist es klar, dass dieser Oeffnungswinkel bei Trockensystemen nicht über einen gewissen Grad gesteigert werden kann, wenn die Schärfe des Bildes erhalten bleiben soll.[2]) Denn die peripherisch auffallenden, durch den schiefen Uebergang vom Glas zur Luft und von der Luft zum Glas zweimal abgelenkten Strahlen scheinen von einem anderen Punkte auszugehen, als die mehr central verlaufenden Strahlen; es kommt somit zu der sphärischen Aberration der Linse noch ein anderes Moment hinzu, welches die Ausnutzung eines möglichst grossen Oeffnungswinkels behindert. Dieser Uebelstand wird wesentlich verringert, wenn wir zwischen Deckglas und Objektivlinse

[1]) Die übliche Bezeichnung der Immersionssysteme: $^1/_{12}$, $^1/_{18}$ bezieht sich auf ihre äquivalente Brennweite, die nach englischer Sitte in Zollen ausgedrückt wird; $^1/_{12}$ entspricht 2 mm, $^1/_{18}$ etwa 1,3 mm.

[2]) Durch die sogenannte „Correction“ wird dieser Nachtheil wenigstens zum Theil vermieden, vergl. die folgende Anmerkung.

eine Flüssigkeit einschalten, deren Differenz im Brechungsvermögen geringer ist, als die zwischen Luft und Glas, wie z. B. Wasser (Wasserimmersion). Fast ganz beseitigt wird die Ablenkung der Strahlen, wenn man eine Flüssigkeit einschaltet, welche dasselbe Brechungsvermögen hat, wie das Glas: Homogene Immersion, Oelimmersion. Man benutzt hierzu[1]) Cedernholzöl, eine Mischung von Fenchel- und Ricinusöl, oder eine Mischung von Chloralhydrat und Glycerin. Mit der Vergrösserung des Oeffnungswinkels steigert sich nicht nur die Helligkeit des Bildes, sondern auch das Unterscheidungsvermögen, die sogenannte auflösende Kraft des Instruments.

Die apochromatischen Objektive (theils Trockensysteme, theils solche für Wasser- und Oelimmersionen) zeichnen sich vor den bisherigen Linsensystemen durch eine höhere Achromasie aus, nämlich durch die Vereinigung von drei verschiedenen Farben des Spectrums in einem Punkt der Achse (Beseitigung des secundären Spectrums der bisherigen achromatischen Systeme) und durch die Correction der sphärischen Aberration für zwei verschiedene Farben des Spectrums. Zu den apochromatischen Systemen sind noch Compensationsoculare nöthig. Indem durch sie die Uebervergrösserung der Objektive für gewisse Farben compensirt wird, erscheinen die Bilder bis zum Rande des Sehfeldes gleichmässig farbenrein.

Die Anwendung der Oelimmersion ist auch für einen geübten, an sauberes, subtiles Arbeiten gewöhnten Mikroskopiker nicht ohne Schwierigkeiten. Das zur Immersion dienende Cedernöl haftet oft so an der Linse, dass sich bei Bewegung dieser auch das Deckgläsehen bewegt. Man wird darum besser thun, bereits fest eingekittete Präparate zu untersuchen, bei denen ja auch ein Ueberfliessen der Immersionsflüssigkeit über den Rand des Deckglases und damit eine Verunreinigung der Flüssigkeit, in welcher das Präparat liegt, vermieden wird. Man bringt einen Tropfen Wasser auf die Unterfläche des Objektträgers (wenn man mit Condensor untersucht) und einen Tropfen Immersionsflüssigkeit auf die Frontlinse. Wasser entfernt man vom Deckglase sehr leicht durch eine feine Glascapillare oder Fliesspapier. Dagegen kann der Oeltropfen nur durch vorsichtiges Wischen oder Tupfen vom Deckglase vollständig entfernt werden; am besten benutzt man dazu ein mit Benzin angefeuchtetes Leinwand- oder Lederläppchen oder einen feinen Pinsel. Die Reinigung der Linsen wird ebenfalls mit feiner Leinwand oder einem weichen Lederläppchen vorsichtig ausgeführt. Beschmutzte Linsen werden mit Wasser gereinigt. Das an denselben haftende Glycerin oder

[1]) Es ist dies nur einer der Vortheile, welche die Immersionssysteme darbieten; ausserdem sind sie in Folge der Reflexions- und Brechungsverhältnisse lichtstärker als Trockensysteme von gleichem Oeffnungswinkel, wie man sich leicht klar machen kann. Um den Einfluss der verschieden dicken Deckgläser zu corrigiren, werden die starken Trockensysteme und Wasserimmersionen in sogenannten Correctionsfassungen gegeben, welche gestatten, die Linsen, aus denen das System besteht, einander zu nähern resp. zu entfernen. Man muss dann für jede Deckglasdicke die Stellung der Correctionsschraube bestimmen, bei welcher das schärfste mikroskopische Bild zu Stande kommt. Bei der homogenen Immersion ist diese Correction überflüssig. Die Immersionssysteme mit Correction sind durch sie ganz verdrängt.

Oel wird durch Alkohol, Balsam durch Chloroform mit einem weichen Leder rasch entfernt, damit der die Objektlinsen vereinigende Balsam nicht angegriffen wird.

3. Oculare. Nebenapparate. Combinationen.

Von Ocularen benützt man gewöhnlich zwei, ein schwächeres zu den gewöhnlichen Arbeiten und ein stärkeres für besondere Fälle; eines derselben enthält den Mikrometer.

Von Nebenapparaten, die der Optiker liefert, sind zu nennen:

1. Ein Revolverapparat zum schnellen Wechseln der Objektivsysteme, am besten einer mit drei Armen.
2. Ein einfaches Mikroskop mit grossem Tisch und grosser Oeffnung in diesem für Präparation und zur Untersuchung grosser Objekte bei schwacher Vergrösserung. Die einfachen Mikroskope von Hartnack, Zeiss und Schieck sind sehr bequem. (Fig. 4.)
3. Ein Zeichenapparat, am besten das knieförmig gebogene sogenannte Oberhäuser'sche Modell mit zwei Prismen.
4. Polarisationsapparat.
5. Spektroskop.

   Die beiden letzteren Apparate werden neuerdings von Schmidt und Haensch in Berlin combinirt gearbeitet.
6. Erwärmbarer Objekttisch nach Max Schultze oder nach Stricker, mit dem von Loewit angegebenen Condensor; am besten von Reichert in Wien zu beziehen, oder der Erwärmungsapparat von Dr. Israel (zu beziehen von Bénèche und A. in Berlin).

Schliesslich geben wir einige empfehlenswerthe Combinationen für den Ankauf von mittleren Mikroskopen, da es nicht immer leicht ist, aus den Catalogen der Optiker das Nothwendige und Wünschenswerthe herauszufinden. Fast jeder Optiker hat seine eigene Nomenclatur; als Vergleichsobjekt bleibt nur die äquivalente Brennweite.

Bei Angabe der Vergrösserung sollte man sich nicht begnügen, nur die Linsencombinationen zu nennen, sondern die Vergrösserung in Zahlen angeben.

Mittlere Mikroskope mit Vergrösserung bis 400 etc.

1) L. Bénèche in Berlin, Grossbeerenstr. 55: Stativ C, Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 2. 3.
2) Hartnack in Potsdam: Stativ IV, IVa, IVb, Systeme: 2. 4. 8. Oculare: 2. 3.
3. Leitz, E., Wetzlar: Stativ: Mittleres Mikroskop System: 2. 4. 7. Oculare: O. II.
4) Sehmidt und Haensch in Berlin, Stallschreiberstr. 5. Stativ: Kleines Modell, Systeme: 1. 2. 4. Oculare: 0. 2.
5) Seibert in Wetzlar: Stativ V, Systeme: 1. 2. 5a. Oculare: 1. 2.
6) R. Winkel, Göttingen: Stativ V, Systeme: 1. 3. 7. Oculare: 1. 3.
7) Zeiss, in Jena: Stativ Va, VII, System: a. A. D. Oculare: 2. 4.

Kauft man zu diesen Instrumenten noch einen Abbe'schen oder dem ähnlichen Beleuchtungsapparat und eine homogene Immersionslinse oder

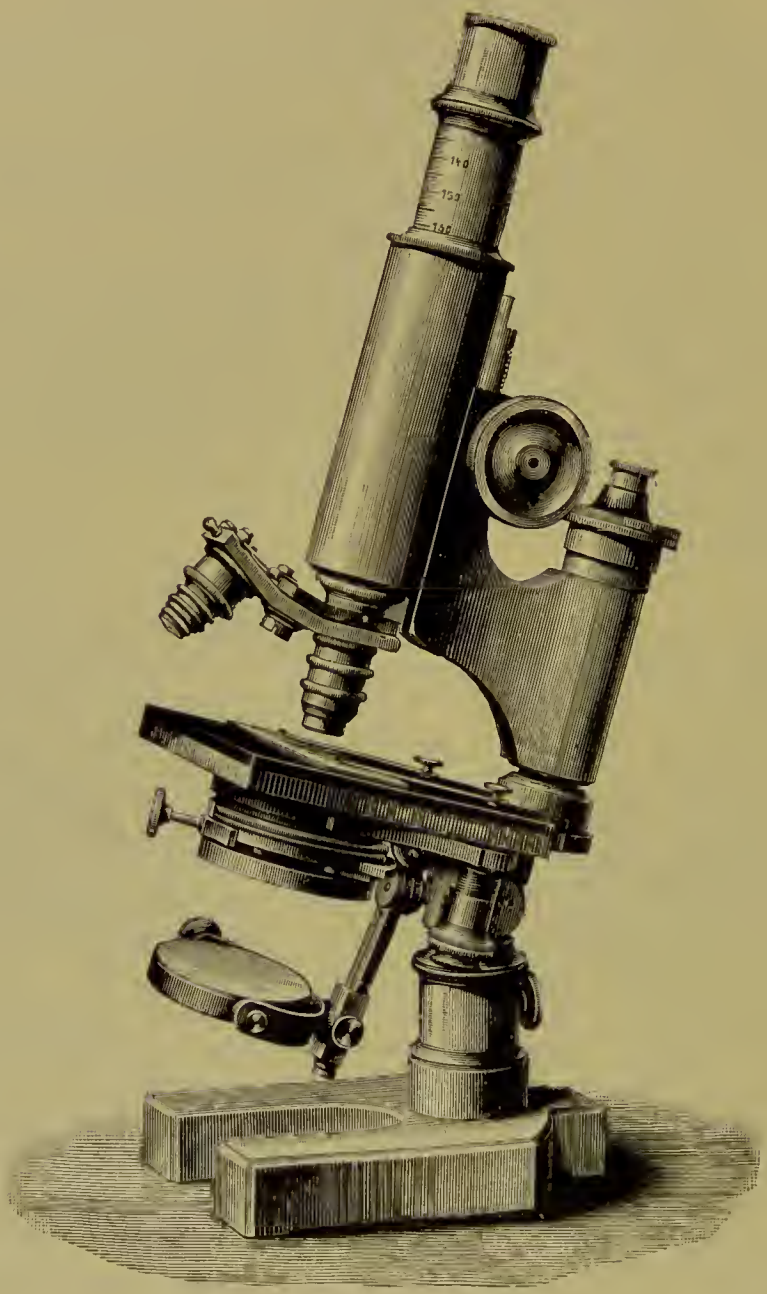

Fig. 1.

Mittleres Stativ No. V, von Hartnack nach Babuchin.

eine apochromatische Immersion mit Correctionsocularen von $^1/_{12}$ oder $^1/_{18}$ äquivalenter Brennweite (mit einem weiteren Aufwande von 150—400 Mark), so ist das Instrument complet.

Die homogenen Immersionen haben einen wesentlich höheren Preis als die Wasserimmersionen.

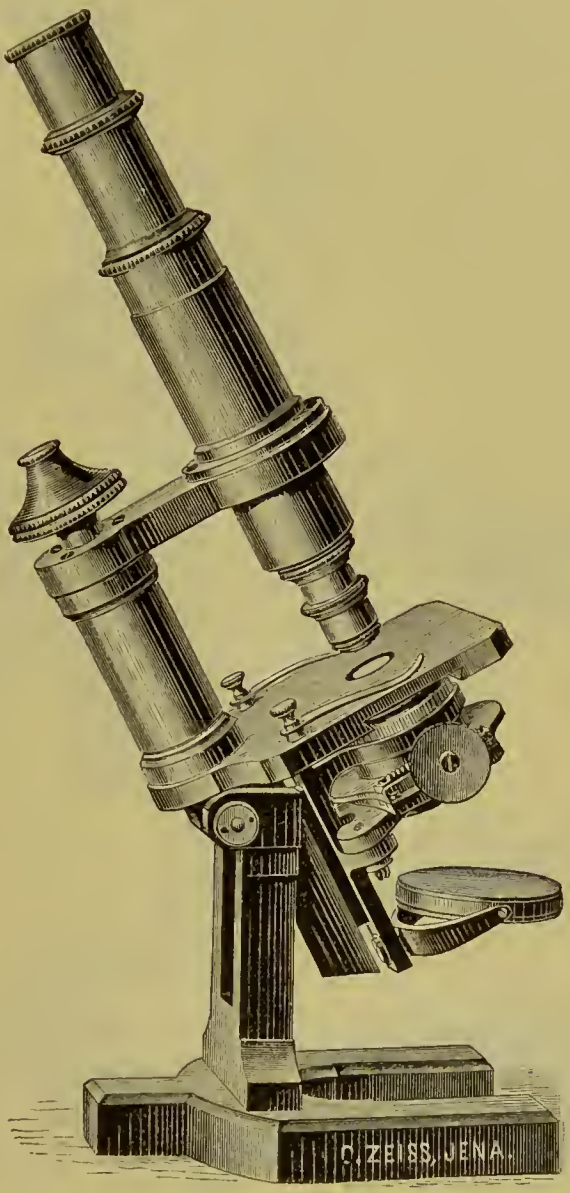

Fig. 2.
Stativ Va von Zeiss.

Die Optiker Zeiss, Hartnack, Seibert, Leitz liefern vorzügliche homogene Immersionen.

Weiterhin nennen wir als Mikroskopverfertiger von Ruf:

Reichert in Wien, Verick & Prazmowsky in Paris, Ross, Powell & Lealand in London, F. Koristka in Mailand.

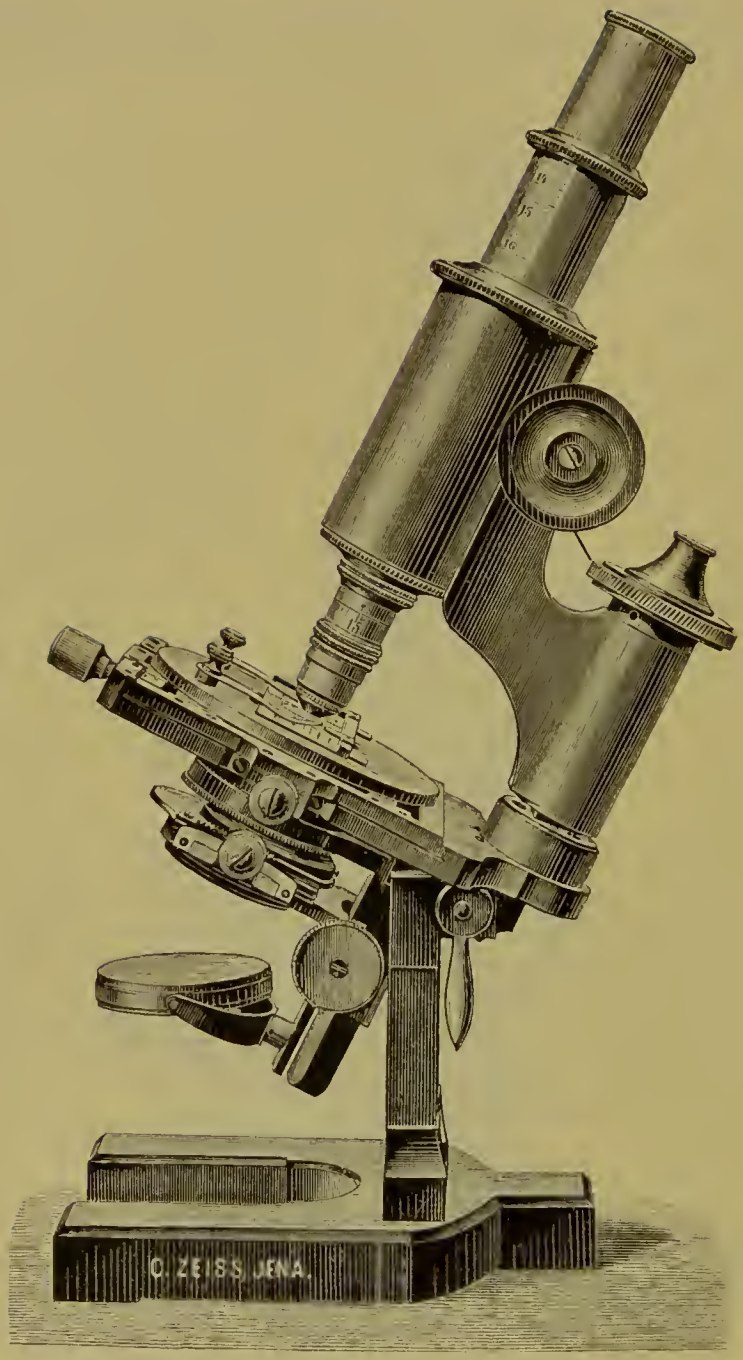

Fig. 3.
Mikroskop für Mikrophotographie und Projection von Zeiss.

Die als besonders »billig« von den Fabrikanten angepriesenen Instrumente sind im Allgemeinen nicht zu empfehlen. Ein gutes Mikroskop mit Abbe'schem Apparat und homogener Immersion, wie es zur Untersuchung von Schizomyceten erforderlich ist, kostet ungefähr gegen 300 bis 350 Mark.

Bestimmung der Vergrösserung des Mikroskops.

Man fixirt mit einem Auge einen durch das Mikroskop gesehenen Objektivmikrometer und blickt mit dem anderen Auge auf ein in der Objektivebene liegendes weisses Papier. Objektbild und Papier decken sich bei richtigem Fixiren. Mit den Spitzen eines Zirkels versucht man nun

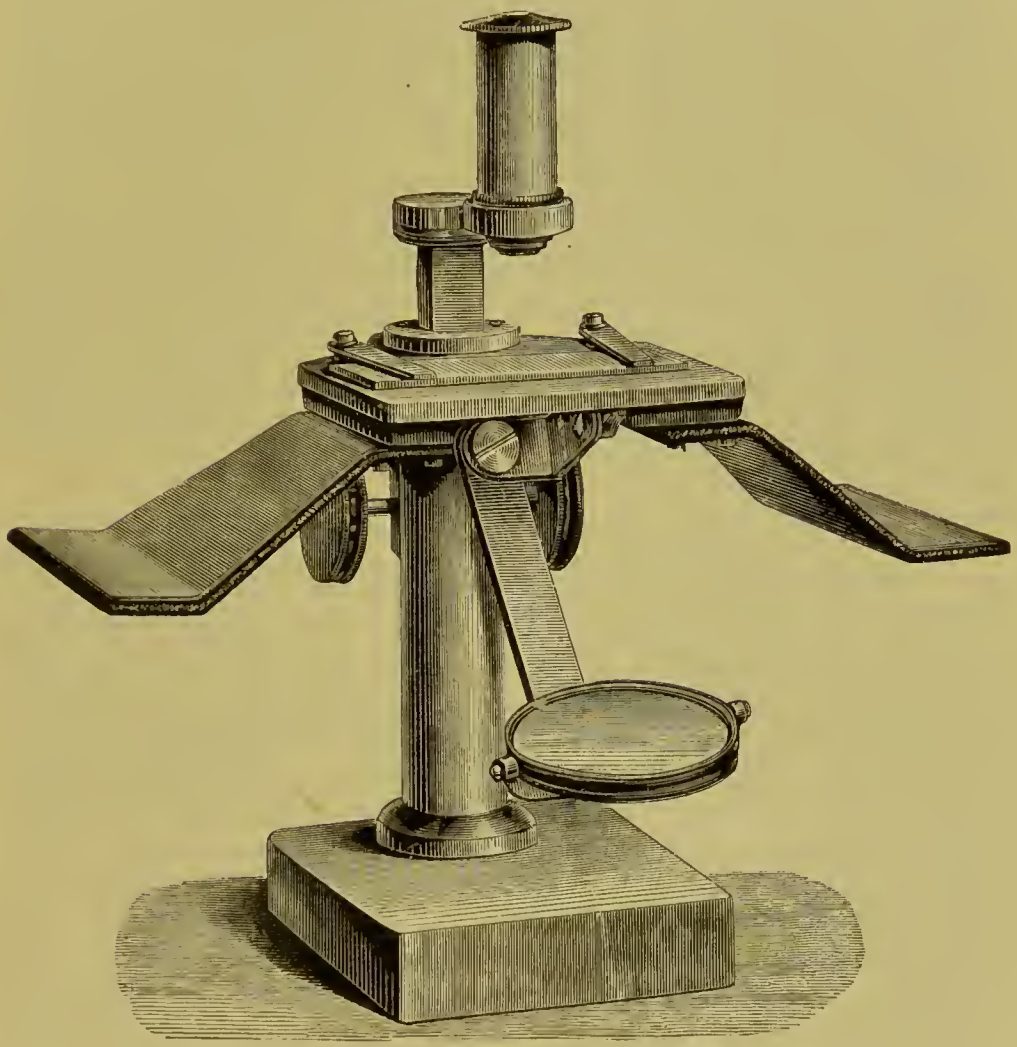

Fig. 4.
Präparirmikroskop von Zeiss.

zwei der Theilstriche des Objektivmikrometers zu begrenzen, was jedoch nicht sogleich gelingt. Da nun die Entfernung der Theilstriche des letzteren genau bekannt ist, erhält man die Vergrösserung des Mikroskops, wenn man die Entfernung der mit Zirkel markirten Theilstriche auf einen Maassstab überträgt.

2. Kapitel.

Utensilien und Instrumente.

Arbeitstisch. Der grösseren Sauberkeit wegen empfiehlt es sich, den Mikroskopirtisch mit einigen Bogen Fliesspapier oder einer starken polirten Glasplatte von 40—50 cm Seite zu bedecken. Legt man dieser ein kleines Blatt schwarzen und weissen Papiers unter, erhält man zugleich eine geeignete Unterlage für helle und dunklere (gefärbte) Objekte.

Schwarze und weisse Tischplatten aus polirtem Marmorglas sind in verschiedener Grösse und Stärke von Anton N. Bouvy, Amsterdam, Heerengracht 625, zu beziehen.

Zum Schutze der Präparate, Reagentien und Instrumente vor Staub dienen aus Holz oder Eisen gefertigte, in mehrere Etagen durch Glasplatten getrennte Kästen von circa 20 cm Höhe, 25 cm Länge, 16 cm Tiefe. Sie sind, um den Raum nicht zu sehr zu beengen, an der vorderen Wand mit eine verschiebbaren Platte versehen, deren oberer Rand mit seiner Fassung, um das Eindringen von Staub in den Kasten zu verhüten, über den Rand der oberen Wand greift.

I. Beleuchtungslampe. Schusterkugel.

Zur Beleuchtung dient stets am besten das Tageslicht, besonders wenn man es von einer weissen Wolke beziehen kann. Das direkte Sonnenlicht kann nicht benutzt werden, doch ist es immer am vortheilhaftesten, den Arbeitstisch in die Nähe eines sonnigen Fensters zu stellen. Angenehm ist ein Raum mit zwei Fenstern, von denen das eine nach Norden gelegen ist, welches für bestimmte Arbeiten, bei denen das direkte Sonnenlicht hinderlich ist, z. B. zum Zeichnen benutzt wird. Wenn die Sonne scheint, wird ein Fensterflügel durch einen weissen Vorhang, am besten aus Pauseleinwand (No. 6 von Bockmühl & Bergerhoff, Düsseldorf), abgeblendet, unter dessen Schatten man arbeitet; das Licht bezieht man entweder von dem Vorhang oder durch den freien Fensterflügel vom Himmel. Indessen unser an nebligen und trüben Tagen so reiches Klima nöthigt uns schon während der Tageszeit sehr oft, besonders für starke Vergrösserungen, unsere Zuflucht zu künstlichen Lichtquellen zu nehmen. Wir benutzen hierzu einfach eine Gasflamme, einen Argand-Brenner, über den ein Cylinder von Marienglas und ein Schirm von weissem Papier kommt, oder besser das Auer'sche Gasglühlicht. Man benutzt das direkte Licht der Flamme und corrigirt die gelbe Farbe dieser durch einen über das Ocular oder den Spiegel gelegtes planes blaues Glas. Indem man mehrere solche Gläser mit verschiedener Intensität des Blau vorräthig hat, kann man die Correction der verschiedenen Entfernungen, die man der Lampe giebt, einrichten, oder man stellt vor den Spiegel eine kleine Scheibe aus verschieden blauem

Glas.[1]) Der Brenner ist durch einen verschiebbaren Arm an einem Stativ befestigt und steht nur etwa 20—30 cm über der Ebene des Tisches; wenn der Schirm der Lampe passend angebracht wird, wird man bei nicht zu langer Beobachtung von der Hitze der Flamme wenig spüren, und dann ist das Arbeiten bei Gas nicht viel anstrengender als bei Tageslicht. Auch Petroleumlicht ist wohl zu gebrauchen, nur muss man darauf sehen, dass der Rundbrenner einen Durchmesser von mindestens 20 mm hat; auch die sogenannten Duplexbrenner von entsprechender Breite sind gut zu verwerthen.

Sehr zu empfehlen ist die Anwendung eines Glaskolben oder „Schusterkugel", die mit einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd-Ammoniak gefüllt ist und zwischen Lampe und Spiegel eingeschaltet wird. Man setzt einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd einige Tropfen Ammoniak zu, bis eine schöne blaue Färbung entsteht; beim weiteren Verdünnen dieser Lösung mit Wasser tritt meist eine Trübung ein, die durch weiteres Ammoniak wieder gelöst wird. Die passende Intensität der Farbe ist sehr leicht auszuprobiren; man erhält dann ein schönes weisses Licht, das in parallelen Strahlen auf den Spiegel fällt.

Der von Kochs-Wolz[2]) (Bonn) construirte Beleuchtungsapparat besteht aus einer Lichtquelle (Petroleum oder Gaslicht) uud dem an der inneren Fläche eines darüber gestülpten Schornsteins angebrachten Reflector, der das Licht durch eine Oeffnung des Schornsteins in einen Glasstab bis unter den Objekttisch führt. Das Licht gelangt mit der Intensität des Lichtes der Flamme in das Objekt, nur vermindert um dasjenige Licht, welches durch Unreinigkeiten im Glas aufgehalten wird.

Das Licht ist gleichmässig und nicht grell und kann durch blaue Glasscheiben, die auf das unter das Mikroskop geleitete Ende des Glasstabes gelegt werden, compensirt werden.

Die Kochs-Wolz'sche Mikroskopirlampe ist jetzt wesentlich verbessert durch die Benutzung von Zirkonleuchtkörpern und eines Gemisches von Sauerstoff und Leuchtgas als Brennmaterial. Das Licht und seine Intensität lässt sich beliebig abstufen durch Drehung des zuleitenden Gashahns (Leuchtgas). Bis jetzt ist der Gebrauch obiger Lampe wegen des hohen Sauerstoffpreises noch etwas kostspielig.[3])

Handlich sind die Mikroskopirlampen für Petroleum von Dr. Lassar (Fig. 5), zu beziehen von F. W. Dannhäuser, Leipzig, Weststr. 42, und die für Gas und Petroleum von Prof. Hartnack, Potsdam (Fig. 6).

---

[1]) Von Hartnack in Potsdam zu beziehen.

Anm.: Bei Benutzung des Auer'schen Lichtes ist eine Abblendung durch blaue Gläser nicht nöthig, weil in ihm die blauen und grünen Lichtstrahlen die rothen bedeutend überwiegen. Auch die Wärme- und Kohlensäureentwickelung wie der Gasconsum sind um die Hälfte geringer als bei dem Argandbrenner.

[2]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. V. 1888, S. 477.

[3]) Schiefferdecker, Archiv für Mikroskopie und mikroskopische Technik, Bd. 7. 1890.

Die Lichtquelle soll niedrig stehen und nur für das Mikroskop selbst verwendet werden; zum Präpariren etc. muss man sich anderweitige Beleuchtung schaffen.

Eine grosse Annehmlichkeit beim Mikroskopiren bietet ein Dunkelkasten oder eine Blendscheibe (Fig. 7) zur Abhaltung des unnöthigen Lichtes. Sie leistet auch besonders gute Dienste beim Arbeiten mit Gas- und Lampenlicht zur Milderung der Wärmestrahlen.

Der Dunkelkasten ist ein viereckiger Kasten ohne Boden und ohne hintere Wand. Er besitzt in der äusseren Wand eine Oeffnung von der Höhe und Breite des Mikroskopirtisches. Statt des Dunkelkastens, der ja schon durch seinen Um-

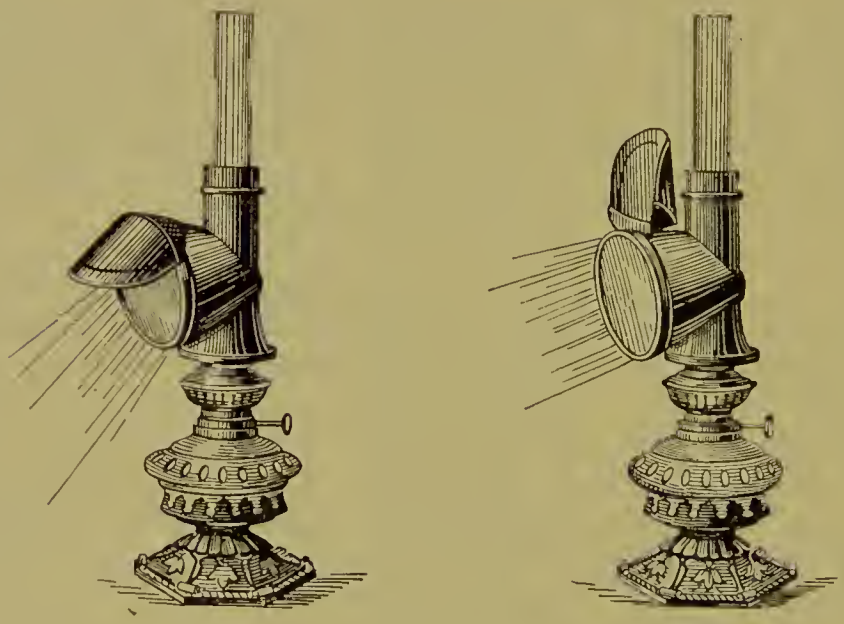

Fig. 5.

Dr. Lassar's Mikroskopirlampe.

fang etwas unbequem ist, bediene ich mich schon seit lange einer geschwärzten Blendscheibe aus Blech, die in einer Hülse an einem Stativ in senkrechter Richtung und dann auch in querer verschiebbar ist (Fig 7). Durch ein Charnier lassen sich die beiden seitlichen Hälften der Blendscheibe einander nähern. Höhe des Stativs 74 cm, Breite der Scheibe 35 cm, Höhe 37 cm.

2. Glasapparate und andere Geräthe.

Die Objektgläser sollen aus weissem, möglichst fehlerfreiem, planem Glase bestehen, von bestimmter gleichmässiger Dicke und Format (am besten das englische) und die Ränder abgeschliffen sein.

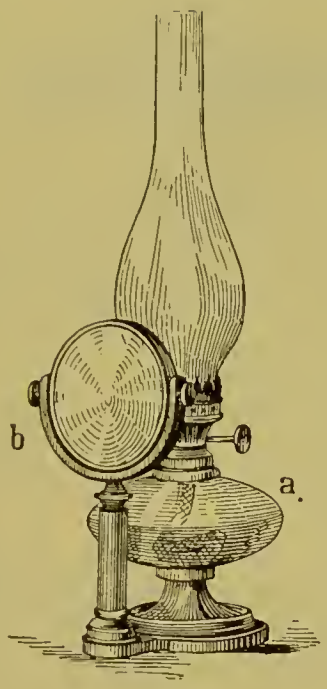

Fig. 6.
Mikroskopirlampe von Hartnack.
a) Petroleumbehälter, b) Sammellinse.

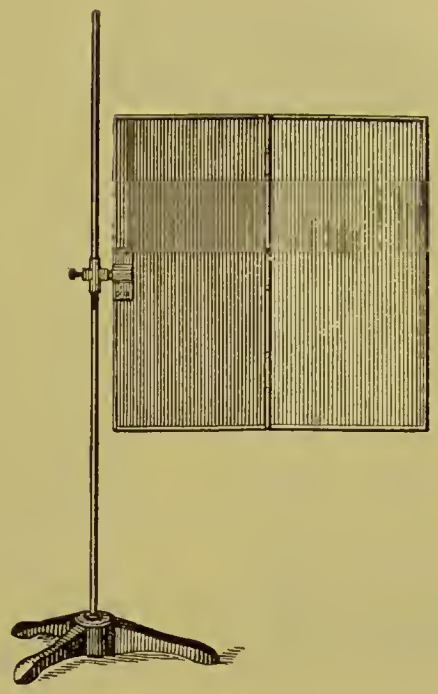

Fig. 7.
Geschwärzte Blende aus Metall.

Die Deckgläschen sind ebenfalls von bestimmter, mittlerer Dicke, am besten etwa 0,16 mm; manche starke Objektivsysteme verlangen besonders dünne Deckgläschen. Von sonstigen Glassachen etc. werden gebraucht:

Fig. 8.

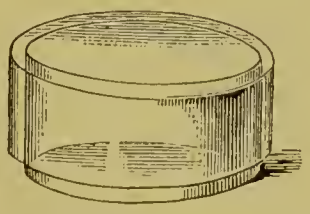

Fig. 9.

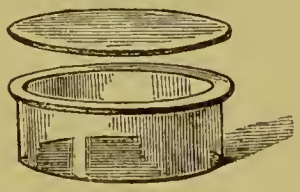

Fig. 10.
Glasdosen mit lose überfallenden Deckeln. Glasdose mit aufgeschliffenem Deckel.

Fig. 11.
Blockschälchen aus Glas mit Deckel.

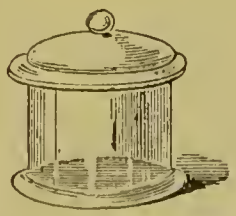

Fig. 12.
Präparatenglas.

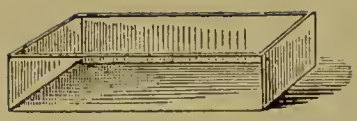

Fig. 13.
Glasbehälter für gebrauchte Objektträger und zum Auswaschen von Präparaten etc.

Fig. 14.
Glasbänkchen zur Aufnahme von Objektträgern.

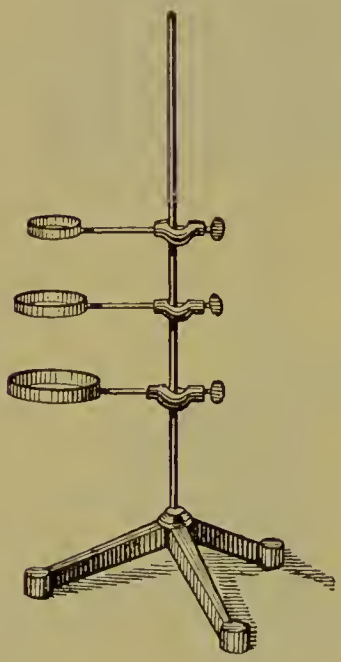

Fig. 15.
Stativ zum Filtriren der Farblösungen.

Uhrschälchen in grosser Zahl, kleinere und grössere von 7—8 cm Durchmesser,
Glasstäbe,
Glasröhren, Capillaren etc.,
Glasschalen von verschiedener Grösse, mit flachem Boden und Deckel, Präparatengläser,
Glasbänkchen,
Glasglocken,
Bechergläser, Spritzflaschen, Kolben, Reagenzgläser etc., ein Stativ mit Trichtern,
Messcylinder,
Kurze Cylinder für Objektträger mit Paraffinpräparaten,
Platte von schwarzem Glas oder ein Stück schwarzes Wachstuch oder Papier und
Platte von weissem Porzellan oder ein Stück steifes Papier (Visitenkarte), als Unterlagen zum Präpariren: erstere für weisse, resp. ungefärbte, letztere für gefärbte Präparate.

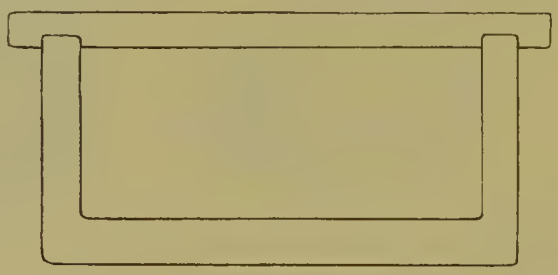

Fig. 16.
Glasdose mit aufgeschliffenem, übergreifendem Deckel.
(Natürliche Grösse.)

Für Reagentien empfehlen sich Gläser mit Deckelstopfen.

Von Tropfflaschen sind solche mit Hütchen vorzuziehen.

Zum Aufbewahren von kleinen Präparaten, wie von Schnitten, sind Glasdosen mit überfallendem Deckel oder Gefässe mit Glasplatten zum Decken wegen des ungenügenden Verschlusses weniger geeignet. Hierfür empfehlen sich

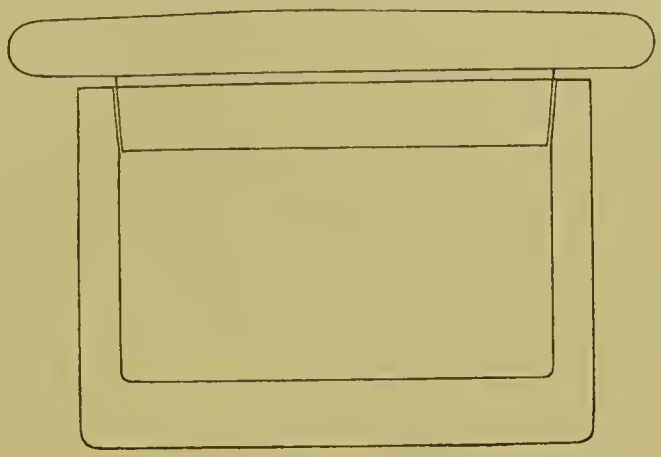

Fig. 17.
Glasbüchse mit eingeschliffenem Stöpsel.
(Natürliche Grösse.)

kleine Glasbüchsen mit eingeriebenem Stöpsel oder Glasnäpfe mit aufgeschliffenem, übergreifendem Deckel. Die Glasbehälter wie deren Stöpsel oder Deckel tragen eingeätzte oder eingebrannte Nummern. Die Aussen-

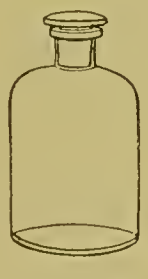

Fig. 18.
Reagenzglas mit Deckelstopfen.

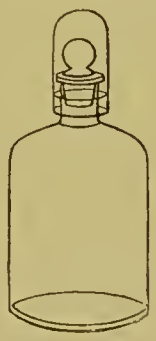

Fig. 19.
Reagenzglas mit Hütchen.

Fig. 20.
Tropfflasche.

Fig. 21.
Tropfflasche mit Pipette.

Fig. 22.
Tropfflasche mit Glashütchen.

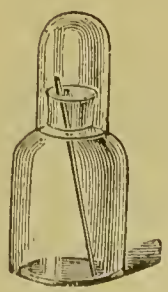

Fig. 23.
Balsamflasche.

fläche der Deckel und Stöpsel besitzen eine mattgeschliffene Fläche, welche mit einem gewöhnlichen Blei einige Marken oder Notizen anzubringen gestattet. Sonst werden sie entweder mit Etiketten[1]) versehen oder mit den Faber'schen Harzstiften[2]) bezeichnet.

Für die Färbung und weitere Behandlung von Schnittserien, besonders des Gehirns und Rückenmarks, empfehlen sich die Steingutplatten von Ch. & G. Siegfried Sohn in Strassburg im Elsass, welche verschieden grosse Zellen enthalten, oder die Nickelschalen von Walb & Heerlein in Strassburg i. E., welche durch Glimmerplättchen in 150—200 Zellen getheilt sind. Auch die für die Aquarellmalerei gebräuchlichen Einsatznäpfchen aus Porzellan oder Fayence, wie die mit verschieden zahlreichen Abtheilungen versehenen Farbschalen (bei Stephan Schönfeld in Düsseldorf und in grösseren Handlungen von Malutensilien) lassen sich hierfür verwenden.

Sehr vereinfacht wird die verschiedene Behandlung der Schnitte, besonders wenn es sich um eine grössere Anzahl handelt, durch die Benutzung der Steinach'schen Siebdosen.[3])

Die Vorrichtung besteht aus einer äusseren, mit übergreifendem Deckel versehenen und einer inneren Glasdose mit durchbrochenem Boden (Glassieb). Man hat nicht nöthig, die Schnitte einzeln von einer Flüssigkeit in die andere zu transportiren, sie bleiben in der Siebdose und werden in dieser gefärbt, gewaschen, entfärbt, entsäuert, entwässert. Beim Färben überträgt man das die Präparate enthaltende Glassieb in eine die Farbflüssigkeit enthaltende grössere Dose. Dieselbe Procedur wiederholt man beim Auswaschen der gefärbten Präparate und dem weiteren Verfahren, wenn man nicht vorzieht, der Zeitersparniss wegen die innere Dose in einen grösseren mit Wasser gefüllten Behälter zu stellen.

Für möglichst ausgiebige Entfärbung und Entsäuerung dient die Doppeldose als Apparat für permanente Irrigation. Der Schlauch eines Irrigators oder einer Wasserleitung wird in das Glassieb geleitet, es füllt sich das ganze Gefäss mit Wasser und, da das Niveau der in der äusseren Dose befindlichen Flüssigkeit niedriger ist als die Höhe des Siebgefässes, so findet ein Ueberströmen der darin befindlichen Schnitte nicht statt, und das Wasser fliesst über den Rand der äusseren Dose ab. Man kann aber auch in diese ein umgebogenes Glasrohr einsetzen und durch diesen Heber die Flüssigkeit abströmen lassen.

(Die Füsse der Siebdose dürften etwas niedriger sein. Verf.)

Reinigung der Gläser.

Gebrauchte Objektträger bringt man in einen mit Stöpsel oder Glasplatte verschlossenen, je nach Bedarf mit Wasser oder verdünnter Säure, gebrauchtem Alkohol oder Xylol gefüllten Glascylinder.

---

[1]) Die Etiketten sind von verschiedener Farbe.

[2]) Die zu beschreibende Fläche muss mit Alkohol gereinigt sein.

[3]) Niederlage bei Siebert, Wien, Alserstrasse 19. Garnitur System I, bestehend aus einer Doppeldose und zwei inneren Dosen (4,35 Mark); Garnitur kleineren Formats 3,85 Mark.

Für den gewöhnlichen Gebrauch genügt es, die Deckgläschen und Objektträger feucht und dann trocken mit einem Tuch abzuwischen. Für manche Zwecke muss aber das Glas chemisch gereinigt werden, was durch längeres Verweilen desselben in verdünnter Salpetersäure zu erreichen ist. Gebrauchte Gläser, insbesondere solche, welche mit Canadabalsam bedeckt sind, werden in gebrauchtem Alkohol oder Xylol gereinigt.

Zum Reinigen gebrauchter Objekt- und Deckgläser empfiehlt Knauer Kochen mit Lysol.

Die zu reinigenden Gläser kommen in einen emaillirten Blechtopf oder einen glasirten Topf, der $^1/_2$ Liter einer 10procentigen Lysollösung enthält. Wenn etwa 60—80 Präparate darin sich angesammelt haben, kommt das Gefäss auf $^1/_2$ Stunde in strömenden Dampf oder wird unter wiederholtem Umschwenken 20—30 Minuten über der offenen Flamme gekocht. Ohne abzugiessen und abzukühlen, wird dann mit Leitungswasser abgebraust, bis nur noch klares Wasser im Gefäss steht, worauf die einzelnen Gläschen mit einem fettfreien Tuch abgetrocknet werden.

Deckgläschen werden, um deren Zerbrechen zu verhüten, von den vorher über der Flamme erwärmten Objektträgern abgehoben und in einem besonderen Gefäss wie die Objektträger gekocht. Während des Kochens müssen die Gläschen von Flüssigkeit bedeckt sein.

Für bakteriologische, insbesondere für Sputum- und Blutuntersuchung sollten stets neue ungebrauchte Deck- und Objektgläser verwendet werden.

Wo das Ausbürsten und Ausspülen der Flaschen und Behälter mit Wasser zum Reinigen nicht genügt, spüle man mit Salzsäure, resp. mit Kalilauge, dann mit Wasser, destillirtem Wasser und endlich mit Alkohol aus.

Glaswaaren und Apparate bei F. & M. Lautenschläger, Berlin, Ziegelstrasse 24, bei Dr. Herm. Rohrbeck, Firma J. F. Luhme & Comp., Berlin. Glasgegenstände und Materialien von G. König, Berlin NW., Dorotheenstrasse 35. Gläser und Apparate bei Warmbrunn, Quilitz & Comp., Berlin C., Rosenthalerstrasse 40. Glasgefässe bei Dr. R. Muencke, Berlin NW., Louisenstrasse 58, bei Chr. Syré, Schleusingen. Glasgegenstände etc. bei W. P. Stender, Dampfglasschleiferei, Th. Schröter, Leipzig; bei Vogel in Giessen.

3. Metallinstrumente.

Die Metallinstrumente: Nadeln, Pincetten, Scheeren Messer, Spatel etc. sind stets in absolut fehlerfreiem Zustande zu halten. Die zum Präpariren (Zerzupfen) dienenden Nadeln sind vor jedesmaligem Gebrauch zu schleifen und auf einem Leder oder steifem, körnigem Papier zu poliren. Nach jedesmaligem Gebrauch werden sie gereinigt. Bei Arbeiten in Säuren gebraucht man statt der Metallnadeln spitz ausgezogene Glasstäbe.

3. Kapitel.

Mikrochemische Untersuchungen und Reagentien.

Für mikrochemische Untersuchungen bleibt das Präparat längere Zeit mit dem Reagens in einem Uhrschälchen in Berührung, oder man lässt jenes auf das Präparat, während wir es mikroskopisch beobachten, einwirken. Zu diesem Zwecke wird das Reagens tropfenweise an den Rand des Deckglases gebracht, von wo es allmählich gegen das Präparat vordringt; wir können diesen Process dadurch beschleunigen, dass wir am gegenüberliegenden Rande des Deckglases die Flüssigkeit mit Fliesspapier absaugen. Auf diese Weise kann man die Einwirkung des Reagens direct unter dem Mikroskop beobachten, z. B. die Auflösung der Protoplasmakörner, der rothen Blutkörper, des Kalks, die Quellung der Grundsubstanz, das Hervortreten der Kerne unter dem Einflusse von Säuren etc. Der Anfänger wird natürlich hierbei darauf zu achten haben, dass das Reagens nicht etwa auf die obere Fläche des Deckglases kommt; es könnte dann sehr leicht die Objektivlinse des Mikroskops schädigen. Andere complicirtere Reactionen, wie die meisten Färbungen werden gewöhnlich in Uhrschälchen vorgenommen.

Die hauptsächlich angewendeten Reagentien sind die folgenden:

I. Destillirtes Wasser.

Das destillirte Wasser tritt mit den meisten Bestandtheilen der frischen Gewebe sofort in einen sehr lebhaften Diffusionsprocess, wodurch jene sehr rasch mehr oder weniger intensiv alterirt werden; jedenfalls cessiren die vitalen Eigenschaften der in destillirtem Wasser isolirten Elemente des menschlichen Körpers sehr bald. Auch die aus der Leiche entnommenen, abgestorbenen, zelligen Elemente werden wesentlich verändert, am augenfälligsten die rothen Blutkörper: sie quellen, geben ihren Farbstoff ab und werden bald vollständig unsichtbar.

Hieraus ergeben sich die Art und die Grenzen der Anwendung des destillirten Wassers bei Untersuchung frischer Gewebe sofort; wir verwenden es mit Vorliebe da, wo es uns darauf ankommt, aus sehr blutreichen Substanzen die Blutkörperchen rasch für unsere Betrachtung zu eliminiren, die uns häufig durch ihre grosse Menge die übrigen Elemente in störender Weise verdecken. Wir werden dabei indessen nie vergessen,

---

Anmerkung: Das destillirte Wasser enthält meist noch minimale Mengen von gelösten Substanzen und giebt, besonders im Sommer, einen ausreichenden Nährboden ab für verschiedene kleinste Organismen. Findet man daher in einem, mit destillirtem Wasser behandelten Präparat Mikroorganismen, so beachte man diese Fehlerquelle; durch öfteres Aufkochen kann man sie tödten.

dass auch das Gewebe selbst durch das destillirte Wasser event. wesentlich verändert werden kann.

Haben wir es mit Alkoholpräparaten zu thun, so bewirkt das destillirte Wasser lediglich eine Aufquellung und zwar meist in gleichförmiger Art, so dass ungefähr die ursprünglichen Grössenverhältnisse wieder hergestellt werden. Weitere Veränderungen werden durch das destillirte Wasser hier nur selten bewirkt, da die Hauptbestandtheile der Gewebe, die Eiweisskörper, coagulirt, d. h. in eine in destillirtem Wasser unlösliche Modification übergeführt worden sind. Jedenfalls muss man aber im Auge behalten, dass die in Wasser löslichen Substanzen, z. B. das Glycogen, der Zucker, den Schnitten rasch entzogen werden.

2. Kochsalzlösung von 0,75 %. Indifferente Zusatzflüssigkeit.

Die verschiedensten Mikroorganismen entwickeln sich hier sehr bald in grosser Menge; die Flüssigkeit muss darum sehr oft neu bereitet werden. Antimykotische Substanzen zuzusetzen, ist nicht immer rathsam, da wir es dann nicht mehr mit reiner Kochsalzlösung zu thun haben; dagegen kann man die Lösung durch Kochen leicht sterilisiren.

Um das Protoplasma und die rothen Blutkörperchen möglichst intact zu erhalten, benutzt man eine Kochsalzlösung von 0,75 %, sowohl für frische Gewebsschnitte als auch zur Verdünnung von Flüssigkeiten. Hat man ein besonderes Interesse daran, die Lebenseigenschaften der Zellen längere Zeit zu erhalten, so füge man zu 9 Theilen der Kochsalzlösung 1 Theil Hühnereiweiss (sogen. künstliches Serum), oder man benutze Humor aqueus, Hydrocelenflüssigkeit, Transsudate, Blutserum, Jodserum etc.

3. Alkohol.

Wir benutzen nur reinen Alkohol, niemals den gewöhnlichen Spiritus, der noch mit anderen Substanzen verunreinigt ist, oft sogar sauer reagirt. Nöthigen Falls mischen wir den absoluten Alkohol mit der nöthigen Menge destillirten Wassers.

Die Hauptanwendung findet der Alkohol zur Härtung der Gewebe, um diesen eine geeignete Schnittconsistenz zu geben. Dies geschieht wesentlich durch die Entziehung des Wassers und durch die Gerinnung der Albuminate: sonst nimmt der Alkohol noch einige, für die morphologische Betrachtung unwichtige Extractivstoffe und Fett (in geringer Quantität) aus den Organstücken. Es geht hieraus sofort hervor, dass wir über den Fettgehalt der Gewebe, z. B. bei pathologischen Verfettungen, immer nur bei Untersuchung frischer Organe richtigen Aufschluss erlangen können, niemals an Alkoholpräparaten. Naturgemäss kommt durch Wasserentziehung eine Verkleinerung, Schrumpfung der

Präparate, zu Stande; sind die verschiedenen Theile des Präparats von ungleichem Wassergehalt, so wird auch die Schrumpfung verschieden ausfallen, und das Präparat wird in sehr unerwünschter Weise deformirt. Meist indessen bleibt die Form sehr gut erhalten und, entsprechend der im Alkohol eingetretenen Verkleinerung des Präparats, quellen die Schnitte, wenn sie in destillirtes Wasser gelegt werden (durch Aufnahme von Wasser) wieder auf, so dass sie dann dem ursprünglichen Verhalten wieder ähnlich werden. Den Hauptunterschied bildet die durch die körnig geronnenen Albuminate bedingte Undurchsichtigkeit der Schnitte, welche auch nach dem Aufquellen in Wasser zurückbleibt; gegen diesen Uebelstand verwenden wir dann meist das Glycerin (s. d.) als optisches Aufhellungsmittel oder auch Säuren und Alkalien, durch welche die gefällten Albuminate wieder gelöst, allerdings auch viele Strukturen zerstört werden.

Die Härtung in Alkohol geschieht am besten so, dass kleine Organstücke in grosse Mengen des absoluten Alkohols eingebracht werden; man sehe darauf, dass das Organstück von allen Seiten her mit dem Alkohol umgeben ist. Zu dem Zweck bedeckt man den Boden des Gefässes mit etwas Watte. Ein etwa 1—$1^1/_2$ Cubikcentimeter grosses Organstück kann binnen 24 Stunden vollständig durchhärten, kleinere Stücke noch schneller. Die früher oft geübte Methode, die Organe zuerst in schwachen, dann allmählich in immer stärkeren Alkohol einzulegen, ist für mikroskopische Zwecke zu verwerfen.

Meist genügt der käufliche Alkohol von 96 %.[1]) Um ihn vollkommen wasserfrei zu machen, giebt man in denselben einige Stücke weissgeglühten Kupfervitriols (15 gr auf 100 ccm Alkohol). Ist dieser blau geworden, wird er aufs Neue gebrannt oder durch frisch gebrannten ersetzt.

Man erhält 90procentigen Alkohol (100 ccm), indem man 94 ccm 96procentigen Alkohol mit 6 ccm destillirten Wassers verdünnt. Alkohol von 60 % wird erhalten, indem man 100 Volumina 90procentigen Alkohols mit 53,7 Volumina destillirten Wassers verdünnt, und 70procentiger Alkohol wird gewonnen durch Verdünnung des 90procentigen Alkohols mit 31,0 Volumina Wasser.

Die zu untersuchenden Objekte bleiben in dem 96procentigen oder absoluten Alkohol, der einige Male erneuert wird. Bereits fixirte Objekte kommen aus der Fixirungsflüssigkeit erst in 60—70procentigen Alkohol und nach nochmaligem Wechsel desselben in 90procentigen.

Ranvier's Drittelalkohol. 30 ccm 90procentigen Alkohols, 60 ccm destillirtes Wasser, dient zum Isoliren der Theile aus frischen Gewebsstücken (siehe Maceration, S. 35.)

Während die Zellen darin resistenzfähig werden, bleiben die Kittsubstanzen weich, so dass die Isolirung der Zellen leicht gelingt.

---

[1]) Tellyesniczky, Archiv f. mikros. Anatomie 52. Bd. 1898, S. 220: Ueber die Fixirungs-(Härtungs-)Flüssigkeiten, fand keinen Unterschied zwischen der Wirkung des absoluten und 70procentigen Alkohols.

Der Alkohol ist für die meisten Gewebe das geeignetste Härtungsmittel. Besonders bei pathologisch-anatomischen Gegenständen liegt uns sehr daran, dass die durch die Präparations-Methode bedingten Veränderungen der Substanz einfache und leicht controlirbare seien; das trifft für den Alkohol zu, während die Härtung in Chromsalzen je nach Zeit, Temperatur etc. verschiedene, schwer zu controlirende Veränderungen, Trübungen, Verfärbungen etc. bewirkt.

Manche Gewebe, namentlich die Lunge, Muskulatur etc., erhalten selbst nach langem Aufenthalt im Alkohol keine geeignete Schnitteonsistenz;[1]) für diese Fälle ist es dann gerathen, das mangelhaft gehärtete Präparat einzubetten.

Nur für das centrale Nervensystem ist der Alkohol nicht sehr geeignet, am wenigsten für die weisse Substanz. Hier tritt keine genügende Härtung ein; ausserdem wird ein grosser Theil der fettigen Substanzen des Nervenmarks ausgezogen, der dann wieder krystallinisch niederfällt. Für diese Organe können wir bis jetzt die Chromsalze nicht entbehren.

4. Aether. Chloroform. (Entfettung.)

Beide Substanzen werden oft gebraucht, um die Fette zu entfernen. Auf frische Organtheile wirken sie jedoch nicht ein, da diese mit Wasser durchtränkt sind, und Chloroform wie Aether sich mit Wasser nicht mischen. Die Organstücke (Schnitte z. B.) müssen zuerst durch längere Behandlung mit Alkohol entwässert werden. Der Schnitt, der entfettet werden soll, kommt also zunächst für etwa 5 Minuten in ein Uhrschälchen mit absolutem Alkohol, dann in ein solches mit Aether und Chloroform; tritt hierbei eine Trübung der Flüssigkeit ein, so ist das ein Zeichen, dass der Schnitt noch nicht genügend entwässert ist, also von Neuem in absoluten Alkohol kommen muss. Nach einigen Minuten Aufenthalt in Aether resp. Chloroform,[2]) um die darin löslichen Substanzen auszuziehen, kommt der Schnitt wieder einige Zeit für die Weiterbehandlung in Alkohol, dann in ein Uhrschälchen mit Wasser. Wir untersuchen entweder in Wasser, gewöhnlich aber muss wegen der starken, durch die Coagulation der Albuminate bedingten Trübung demselben Essigsäure (zur Wiederaufhellung) zugesetzt werden. Der Gang, den wir zur Entfettung frischer Schnitte zu nehmen haben, ist also folgender:

Kochsalzlösung oder Wasser,
Alkohol,
Chloroform oder Aether,
Alkohol,
Wasser, dazu dann Essigsäure.

[1]) Dasselbe gilt zuweilen für ältere Spirituspräparate, welche nachträglich gehärtet werden sollen.

[2]) In Chloroform werden die Schnitte sofort sehr durchsichtig; es rührt dies nicht etwa von der Lösung der Fette her, sondern ist ein einfach physikalisches Phänomen und wird bedingt durch den hohen Brechungsindex des Chloroforms. In Alkohol zurückgebracht, zeigt der Schnitt sofort wieder seine frühere Undurchsichtigkeit.

Rascher geht die Ausziehung von Fett und Mark bei höherer Temperatur.

Man kocht die Objekte nach Behandlung mit kaltem Alkohol und Aether wenigstens dreimal mit Alkohol und Benzol 5—10 Minuten auf und giesst das Flüssige jedesmal heiss ab.

5. Säuren.

a) Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure. Die starken Mineralsäuren haben in höheren Concentrationsgraden die Eigenschaft, die Eiweisskörper rasch zu coaguliren: sie können in Folge dessen zur Fixation zarter Strukturen mit Vortheil benutzt werden (siehe Fixirung S. 46). In ganz verdünntem Zustande (etwa 1 : 1000) bewirken sie wesentlich eine Aufquellung der meisten, protoplasmatischen Substanzen, der contractilen und der leimgebenden Substanz etc., ähnlich der Essigsäure. Sonst dienen sie zum Entkalken (siehe Entkalkung).

b) Chromsäure. Chromsaure Salze, Müller'sche Lösung. In sehr starker Verdünnung wird die Chromsäure als Macerationsmittel gebraucht, etwa 1 : 10000 und 1 : 30000; legt man z. B. ein Stückchen Rückenmark für 24 Stunden in eine solche Lösung, so gelingt es dann sehr leicht, die Ganglienzellen mit ihren zum Theil vielfach verästelten Fortsätzen zu isoliren, da die Kittsubstanz erweicht, resp. gelöst ist.

Die Chromsäure ist aber auch Härtungsmittel; in 0,2—1procentiger Lösung, oder in Verbindung mit Salzen als Kali bichromicum und Ammonium bichromicum (siehe Fixirung).

c) Die organischen Säuren, besonders die Essigsäure, benutzen wir theils zur Fixation, besonders in Verbindung mit anderen Körpern, theils zur Lösung resp. Aufquellung der Albuminate und der leimgebenden Substanz, aus welcher bekanntlich die Bindegewebs-Fibrillen bestehen. Da die Substanz der Kerne und das elastische Gewebe, die Fette, das Nervenmark etc. ihr widersteht, ist sie ein sehr bequemes Mittel, um den innerhalb einer dunkelkörnigen Zelle verborgenen Kern und das im Bindegewebe, in der Muskelsubstanz etc. zerstreute, elastische Gewebe und Nerven deutlich zu machen. Auch die im Protoplasma, in der contractilen Substanz der Muskeln etc. eingelagerten Fettkörnchen treten nach Essigsäurewirkung viel deutlicher hervor; ebenso verhalten sich die in den Geweben vorhandenen Mikroorganismen. Schon in einer Verdünnung von 1 : 100 wirkt sie in der beschriebenen Weise; selbst bei 1 : 1000 tritt die aufhellende Wirkung noch deutlich zu Tage, nur etwas langsamer.

Wenn wir einen Schnitt vom frischen Organ oder vom Alkoholpräparat in ein Uhrschälchen mit Essigsäure bringen, so wird er gewöhnlich ganz durchsichtig und quillt dabei stark, oft in ungleichmässiger Weise, so dass der Schnitt eine wellige Beschaffenheit annimmt, wodurch er für die Untersuchung nahezu unbrauchbar wird. Wir thun daher besser, die

Essigsäure unter dem Deckglase auf die Schnitte einwirken zu lassen, indem wir einen Tropfen an den einen Rand des Deckglases geben oder indem wir das Deckglas etwas heben und rasch die Essigsäure eindringen lassen; der leichte Druck des Deckglases genügt, um die Flächengestalt des Schnittes zu erhalten. Soll die Essigsäure prompt und energisch wirken, so benutzen wir die unverdünnte Säure, den Eisessig; für die meisten Zwecke genügt eine mässige Verdünnung mit destillirtem Wasser.

In vielen Substanzen, welche mit alkalischen Eiweisslösungen durchtränkt sind, tritt durch die Essigsäure zuerst eine Trübung auf, bedingt durch die Neutralisation des Alkali; setzt man dann mehr Essigsäure zu, so hellt sich diese Trübung wieder auf. Indessen kann auch eine dauernde Trübung durch Essigsäure entstehen, die sich im Ueberschuss der Säure nicht löst; das Mucin wird nämlich durch Essigsäure gefällt. In Exsudaten, Cysteninhalt etc. finden sich oft gleichzeitig Fibrin, Serumeiweiss und Mucin; je nach den quantitativen Verhältnissen der Mischung wird dann die Wirkung der Essigsäure verschieden ausfallen. In den meisten Fällen werden die Substanzen durch die Essigsäure stark aufgehellt, durchsichtig.

Bei der Quellung, welche die eiweisshaltigen und leimgebenden Körper durch die Essigsäure erleiden, bleiben die Conturen, also die Grenzen der gegen die Säure resistenten Gebilde, nicht immer unverändert. Schon in den vierziger Jahren machte Henle darauf aufmerksam, dass die mehrfachen Kerne, welche nach Essigsäurewirkung in den weissen Blutkörperchen, Eiterkörperchen etc. auftreten, nicht präformirte Bildungen seien; diese Körper enthielten vielmehr nur einen Kern, der durch die Wirkung der Säure in mehrere Stücke zersprengt werde. Für viele Fälle trifft dies in der That vollkommen zu; wenn wir auch jetzt wissen, dass ein Theil der lymphoiden Zellen schon im lebenden Zustande mehrere Kerne besitzt, so ist es doch dringend geboten, daran zu denken, dass die in einer Zelle nach Essigsäure-Einwirkung auftretenden Kerne möglicherweise Kunstproducte, Sprengstücke eines ursprünglich einfachen Kernes darstellen können.

In bindegewebigen Substanzen wird durch die Essigsäure oft eine wesentliche Verschiebung der Struktur bewirkt; z. B. sind die regelmässigen Längsreihen, in denen die Zellen der Sehnen, Fascien etc. angeordnet sind, nach der Aufquellung durch Säure gewöhnlich nicht zu constatiren, die Kerne liegen dann scheinbar regellos zerstreut. Ranvier gebrauchte die Vorsicht, eine kleine Sehne in gespanntem Zustande an den Enden durch Wachskügelchen auf dem Objektglase zu fixiren, sie einzudecken und erst dann die Essigsäure langsam einwirken zu lassen; dann tritt die Quellung in weniger unregelmässiger Weise ein und die Längsreihen der Zellen resp. der Kerne werden deutlich. Es ist dem Anfänger dringend anzurathen, sich von diesen und ähnlichen Thatsachen durch eigenes

Experimentiren zu überzeugen, damit er in die Lage kommt, zu beurtheilen, welche Veränderung der Strukturen er durch seine verschiedenen Zusatzflüssigkeiten einführt.

Ameisensäure, Weinsäure sind weniger üblich; ihre Wirkung ist der Essigsäure ähnlich.

d) Pikrinsäure. Diese Säure hat eine besondere Verwendung, sie dient nämlich als Härtungsmittel und als Färbesubstanz; die Albuminate werden in der gesättigten Lösung der Pikrinsäure allmählich in die unlösliche Modification übergeführt, so dass die Gewebe fast ganz ohne Schrumpfung eine geeignete Schnittconsistenz erhalten, dabei werden die meisten Substanzen gelb gefärbt, einige besonders intensiv, z. B. die glatten Muskeln, die verhornten Zellen der geschichteten Epithelien und der Epidermis etc. Diese charakteristische Färbung tritt auch an Schnitten von Alkohol-Präparaten in wenigen Minuten ein, wird aber durch Wasser und Alkohol rasch wieder ausgezogen. Wollen wir die Färbung conserviren, so muss dem Wasser, Alkohol, Glycerin etc. eine kleine Menge Pikrinsäure zugesetzt werden.

Zur Fixirung dient gesättigte, wässerige Pikrinsäure, worin die Organstücke 24 Stunden verweilen, um darauf in Alkohol gewaschen zu werden.

6. Alkalien. Kali- und Natronlauge. Ammoniak.

Die Alkalien bewirken eine Auflösung resp. Aufquellung der Albuminate, der leimgebenden Substanz, der contractilen Substanz der glatten und quergestreiften Muskeln und der Kerne; selbst die Hornsubstanz wird durch sie vollkommen durchsichtig.

Von Gewebebestandtheilen widerstehen den Alkalien nur:

1. Das elastische Gewebe,
2. Die Fette (auch das Nervenmark),
3. Kalk, Pigment etc.,
4. Die amyloide Substanz, ausserdem auch Chitin (Haken von Tänien, Echinococcen), Cellulose, Pilzfäden, Sporen und Schizomyceten.

Wo es sich darum handelt, die zuletzt aufgeführten Substanzen zu suchen, da treten die Alkalien ein. Allerdings wird die Gewebsstruktur durch sie nahezu vollständig ruinirt; während wir uns an einem durch Essigsäure ad maximum aufgehellten Schnitt durch die restirenden Kerne stets noch ziemlich gut orientiren können, fällt hier alles derartige weg, und nur an dem elastischen Gewebe, den homogenen Membranen, haben wir noch Anhaltspunkte.

Für die meisten Zwecke genügt eine Kali- oder Natronlauge von 1—3%; schon in dieser Verdünnung tritt die aufhellende Wirkung sofort ein. Eine besondere Wirkung kommt der concentrirten 32,5procentigen

Lauge für Maceration und Isolirung zu; in ihr erhalten sich die meisten Elemente, während die Kittsubstanz gelöst wird. Namentlich für glatte und quergestreifte Muskelfasern trifft dies zu.

Legt man z. B. ein Stückchen eines Uterusmyoms für einige Minuten in ein Uhrschälchen mit 32,5procentiger Kalilauge, so zerfällt dasselbe unter der Nadel fast von selbst in die einzelnen Faserzellen; man hat dabei nur darauf zu achten, dass die Lauge nicht verdünnt wird, denn dann löst sich auch die Faser selbst sofort auf; das Präparat muss also direct in der 32,5procentigen Lauge untersucht werden. Auch rothe Blutkörperchen conserviren ihre Form in derselben, während sie in verdünnten Lösungen sofort verschwinden (siehe Maceriren S. 36).

Nach einer Beobachtung Virchow's sind schwache Lösungen der Alkalien im Stande, die Bewegungen von Flimmerzellen wieder anzuregen, die bereits bewegungslos, scheinbar abgestorben waren.

Die Reagentien sind in Glasflaschen mit eingeschliffenen Glasstöpseln (Deckelstopfen) aufzubewahren. Für Glycerin, Essigsäure, destillirtes Wasser etc. empfehlen sich sogenannte Kobaltfläschchen, deren eingeschliffener Glasstöpsel nach unten in einen Glasstab sich verlängert, während über das Ganze ein hutförmiges Glasdach gedeckt wird.

Zur Erhaltung der Reinheit unserer Reagentien ist ausser der erwähnten Art der Aufbewahrung weiterhin noch erforderlich, dass wir sauber mit ihnen arbeiten. Wir entnehmen die nöthige Menge des Reagens nur mit einem sorgfältig gereinigten Glasstab oder einer Glasröhre.

„Kunstproducte." Viele Strukturelemente sind nur mit Hilfe chemischer Einwirkungen zu studiren. Man würde aber fehl gehen, wenn man alle die Strukturen, welche nur durch bestimmte Reagentien sichtbar zu machen sind, als „Kunstproducte" a limine zurückweisen würde. An dem lebenden, weissen Blutkörperchen sieht man gewöhnlich nichts von einem Kern, an der lebenden Cornea nichts von Zellen, weil die Differenzen im optischen Verhalten des Kerns gegen das Protoplasma, der Zelle gegen die Grundsubstanz zu gering sind, um sichtbar zu werden, oder weil die einhüllende Substanz zu undurchsichtig ist, um die zarten Conturen des eingeschlossenen Körpers hindurch zu lassen. Mit dem eintretenden Tode werden dann diese Differenzen durch verschiedene, chemische Veränderungen, Gerinnung etc., deutlicher, resp. die einhüllende Substanz wird durchsichtiger, und wir sind jedenfalls berechtigt anzunehmen, dass der Kern schon im lebenden, weissen Blutkörperchen, die Zellen in der lebenden Cornea vorhanden sind, obgleich wir sie erst nach Eintritt der postmortalen Veränderung nachweisen können. Ganz ebenso verhält es sich mit den Zellengrenzen bei vielen Epithelien, mit den Axencylindern in den Nervenfasern etc., die ebenfalls im lebenden Zustande unsichtbar oder kaum sichtbar, und trotzdem vorhanden sind. Ohnehin bekommen wir bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen die Gewebe fast nie im lebenden, natürlichen Zustande zu Gesicht, sondern immer in mehr oder minder vorgeschrittener, cadaveröser Veränderung; wir müssen demnach stets daran denken, dass eine regelmässig gefundene Struktur nicht nothwendig als solche schon intra vitam vorhanden war; jedenfalls aber deutet sie auf eine schon intra vitam vorhanden gewesene Differenz, die dann

durch die cadaveröse Veränderung, resp. das von uns angewandte Reagens zum Ausdruck kommt. Weiterhin, wenn innerhalb einer gewissen Zahl von ursprünglich anscheinend gleichartigen Elementen einige auf ein bestimmtes Reagens in besonderer Weise reagiren, andere dagegen nicht, wenn beispielsweise einige durch einen bestimmten Farbstoff gefärbt werden, andere farblos bleiben, so werden wir nothwendig auf eine präformirte Verschiedenheit der Elemente schliessen müssen.

Hierauf beruhen alle die zum Theil complicirten Präparationsmethoden, die wir zur Darstellung der verschiedenen, histologischen Elemente benutzen. Wir sind bei unseren mikroskopischen Untersuchungen meist nicht einfach als Beobachter thätig, sondern wir experimentiren, und unsere Befunde sind demnach zusammengesetzt aus den präformirten Bildungen einerseits und aus den von uns eingeführten Factoren andererseits. Wer freilich von seinen Befunden, ohne Berücksichtigung dieser meist sehr einfachen Verhältnisse, direct auf die präformirte Struktur schliessen wollte, der würde stets den grössten Irrthümern ausgesetzt sein; z. B. eine scheinbare Faser kann entweder einer wirklichen, präformirten Faser entsprechen, oder aber der Ausdruck einer Faltung sein, oder ein Gerinnungsproduct darstellen etc.

Speciell bei pathologischen Untersuchungen benutzen wir die Reagentien noch nach einer anderen Richtung hin. Wir haben nämlich oft genug die Aufgabe, nach bestimmten Elementen, Fremdkörpern, Parasiten etc. zu suchen; wenn wir nun wissen, dass diese gesuchten Elemente gewissen Reagentien und Behandlungsmethoden widerstehen, während die übrigen Substanzen durch dieselbe Behandlung zerstört werden, so haben wir hierin eine sehr brauchbare Untersuchungsmethode für unseren bestimmten Zweck, wenn auch die Strukturverhältnisse des Organs dabei verloren gehen.

Zweiter Abschnitt.

Untersuchungsmethoden.

1. Kapitel.

Das frische und lebende Objekt.

Um das Verhalten der Gewebe im Leben kennen zu lernen, sollten wir dieselben im lebenden Thierkörper untersuchen, was jedoch nur in wenigen Fällen ausführbar ist. Meist müssen wir uns darauf beschränken, unsere Untersuchungen an Objekten auszuführen, die möglichst schnell dem lebenden oder frisch getödteten Thiere entnommen und vor jeder Schädigung geschützt wurden, so dass wir sie in einem Zustand erhalten, der möglichst dem während des Lebens entspricht. Bei kaltblütigen Thieren ist dies selbstverständlich leichter zu erreichen als bei Warmblütern. Im letzteren Fall suchen wir durch Erwärmen auf dem heizbaren Objekttisch das Präparat in der geeigneten Körpertemperatur zu erhalten.

Zunächst ist das Präparat vor dem Druck des Deckglases möglichst zu schützen, der nicht nur durch das Gewicht des Glases, sondern vielmehr durch die Capillarattraction bei dünner Flüssigkeitsschicht ein sehr hoher sein kann. Wir unterstützen, um dies zu vermeiden, das Deckglas, indem wir unter dieses einen schmalen Streifen dünnen Papiers, ein Stückchen Deckglas, ein Haar legen oder ein oder mehrere Wachströpfchen auf den Objektträger oder die Objektseite des Deckglases bringen, oder das eine oder andere dieser Gläser mit einem Lackring versehen. Man benutzt dazu in Alkohol gelösten Schellack oder Siegellack, der mit einem feinen Pinsel in dünner Schicht aufgetragen wird, und erhält auf diese Weise eine sogenannte Zelle. Oder wir untersuchen in dem hängenden Tropfen mit Benutzung der feuchten Kammer. Dies ist besonders für Flüssigkeiten (Bakterienaufschwemmungen) angezeigt.

Weiterhin muss verhindert werden, dass die Flüssigkeit, in der wir das Gewebe untersuchen, verdunstet und dadurch in ihrer Concentration sich ändert; dieser Uebelstand tritt am Rande des Präparats sehr schnell ein, langsamer in der Mitte desselben, natürlich um so langsamer, je höher die Flüssigkeitsschicht ist, und je weiter wir uns von dem Rande ent-

fernen. Dies verhüten wir, indem wir die Verdunstung möglichst beschränken. Zunächst werden wir für eine hinreichende Menge Gewebs- oder Zusatzflüssigkeit sorgen und dann werden wir die Verdunstung hindern, indem wir mit Oel oder Vaselin einen Rahmen um den Rand des Deckgläschens ziehen, oder indem wir möglichst für Erneuerung der verdunsteten Flüssigkeit sorgen.

Wo uns nicht genug Gewebsflüssigkeit zur Verfügung steht, untersuchen wir das Gewebe in einer Flüssigkeit, die dem Gewebssaft desselben möglichst entspricht. Am besten wählen wir hierfür Flüssigkeiten desselben Thieres: Humor aqueus, Blutserum, Ascites- oder Hydroceleflüssigkeit etc., Jodserum, oder bedienen uns einer Kochsalzlösung (physiologische Kochsalzlösung von 0,5—0,75%).

Das **Jodserum,** zuerst von Max Schultze angewandt, erhält man, indem man einen frischen, trächtigen Uterus eines grösseren Thieres, den

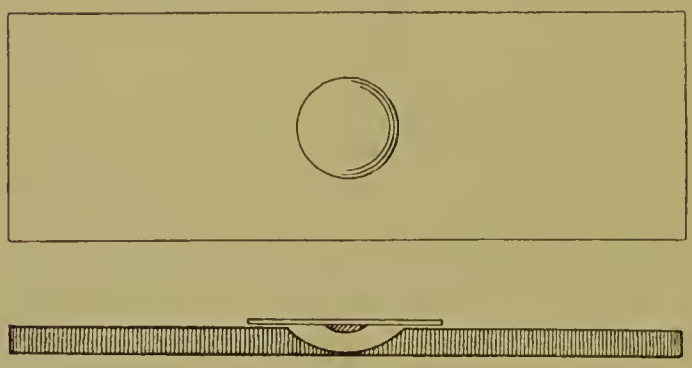

Fig. 24.
Hohler Objektträger, a von der Fläche, b im Durchschnitt.

man aus dem Schlachthause bezieht, vorsichtig öffnet, um das Fruchtwasser (Amniosflüssigkeit) zu gewinnen. Dieses versetzt man mit Jod, indem man etwas Jodtinctur zutröpfelt oder in einer kleinen Portion etwas Jod löst und diese Lösung zu dem übrigen Fruchtwasser giebt. Der entstehende Niederschlag wird abfiltrirt. Das Jodserum ist, wenn gut bereitet und gut aufbewahrt, lange haltbar. (Jod verhindert die Fäulniss.) Für den Gebrauch entnimmt man eine kleine Portion und schliesst sogleich vorsichtig die Flasche.

Eine dem Jodserum entsprechende Flüssigkeit erhält man, indem man 30 gr Hühnereiweiss, 270 gr Wasser und 25 gr Chlornatrium mischt und die entsprechende Menge Jodtinctur zufügt.

Als **feuchte Kammer** dient ein mit einer 1—2 mm tiefen Zelle versehener Objektträger. Man stellt sich einen solchen durch einen aufgekitteten Glasring oder Glasleisten leicht her, oder bezieht ihn als sogenannten hohlgeschliffenen Objektträger. Wenn man dann den Rand der

Zelle mit Oel oder Vaselin bestreicht, das Tröpfchen Flüssigkeit auf die Mitte des Deckglases bringt und zwar auf die untere Fläche desselben, so kann man leicht einen luftdicht abgeschlossenen Raum herstellen, innerhalb dessen eine weitere Verdunstung nicht stattfindet (Fig. 24). Oder man benutzt einen Objektträger mit ringförmiger Rinne (Fig. 25). Lassen wir dann zwei Röhren in die Zelle einmünden, so können wir die Einwirkung von Gasen auf die im hängenden Tröpfchen enthaltenen Elemente mikroskopisch studiren (Gaskammer).

Eine kreisförmige Rinne r umschliesst eine vertiefte Fläche o. Die Rinne wird mit Wasser gefüllt. Das Deckplättchen trägt an seiner unteren Fläche das zu untersuchende Objekt.

Die sogenannten „amoeboiden" Protoplasmabewegungen, eventuell auch Theilungsvorgänge etc. der lebenden Zellen, sind auf diese Weise zu

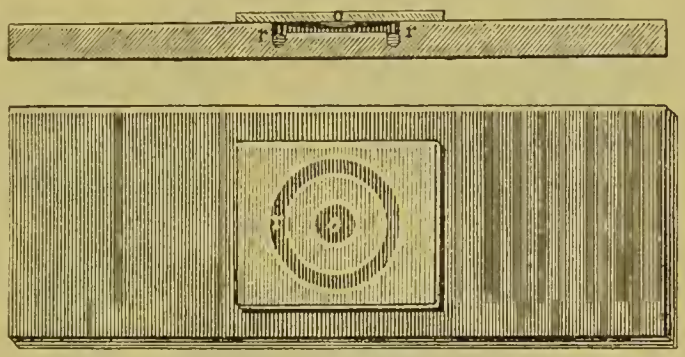

Fig. 25.
Feuchte Kammer, a im Durchschnitt, b von oben.

beobachten; dabei ist natürlich jede Strömung in der Flüssigkeit zu vermeiden, damit nicht etwa durch eine Drehung der Elemente eine Gestaltsveränderung derselben vorgetäuscht werde. Die farblosen Zellen des Blutes und der Lymphe, die Eiter- und Schleimkörperchen, viele der Zellen, die man in Exsudaten antrifft, auch Geschwulstzellen, geben Gelegenheit zu diesen Beobachtungen. Die Bewegungen sind fast stets sehr langsame, auch bei Anwendung des heizbaren Objekttisches.

Ausser dem von Max Schultze construirten heizbaren Objekttisch (Fig. 26) sind auch die übrigen Constructionen zu empfehlen.

Die neueren Heiztische werden mit warmem Wasser erwärmt und erzielen dadurch eine mehr gleichmässige Temperatur.

Ranvier's heizbarer Objekttisch besteht aus einem hohlen Blechkästchen, dessen obere Wand von einer trichterförmigen Oeffnung durchbrochen ist, welche das mit Watte umwickelte Objektiv aufnimmt, während die im Boden des Kästchens befindliche Oeffnung der Lichtzufuhr dient. Die innere Höhlung des Kästchens dient zur Aufnahme des Präparates.

Das Kästchen ist mit einem Thermometer und zwei Röhren versehen, von denen die eine für das zufliessende, die andere für das abfliessende Wasser bestimmt ist.

Israel's Vorrichtung erwärmt das Präparat von oben und besteht in einem runden Metallkasten, dessen centrale Oeffnung zur Aufnahme des Objektivs bestimmt ist. Das Wasser fliesst durch ein Metallrohr zu und durch ein zweites, welches mit einem Thermometer versehen ist, ab.

Löwits' heizbarer Objekttisch, ein flacher hohler Kasten mit centraler Oeffnung, gestattet, wie der von Israel, das Objekt direct auf

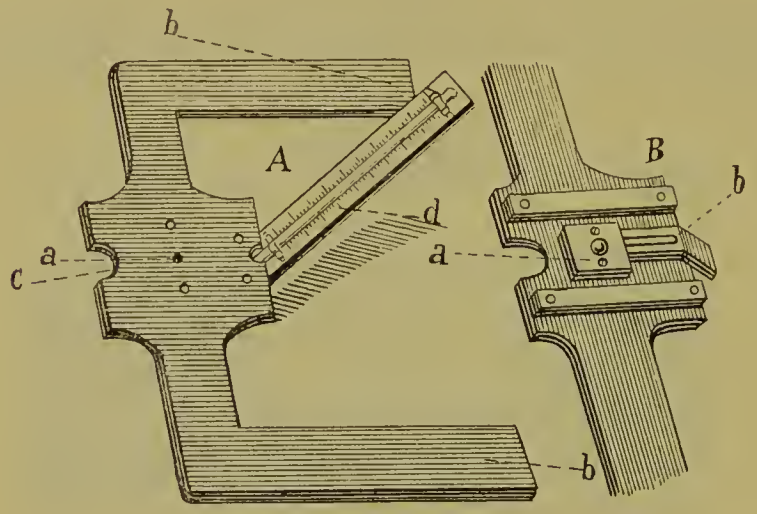

Fig. 26.
Max Schultze's heizbarer Objekttisch.
b die Seitenarme, welche mit Lampen erwärmt werden, a Oeffnung zum Durchtritt des Lichtes, auf welche das Objekt gelegt wird, c Ausschnitt für das Mikroskop, d Thermometer. A Ansicht von oben, B Ansicht von unten.

den Condensor zu legen, der in der Oeffnung des Tisches befestigt wird. Das Wasser, welches durch ein Rohr zugeführt wird, strömt durch ein im Tische angebrachtes Röhrensystem und fliesst durch ein zweites Rohr ab. Das Thermometer befindet sich im Tische.

Der heizbare Objekttisch von **Flesch** ermöglicht einen raschen Temperaturwechsel.

Kraus[1]) hat neuerdings einen elektrisch geheizten regulirbaren Objekttisch beschrieben.

---

[1]) Centralblatt für Bakteriologie Abth. 1, Bd. 23, 1898, p. 16.

Amböoide Zellen, Kreislauf, Entzündung etc.

a) Bei Kaltblütern (Frosch).

Im lebenden Gewebe (Froschzunge, Mesenterium, Schwimmhaut) entziehen sich leicht die Wanderzellen einer längeren Beobachtung, oder sie häufen sich bald so reichlich an, dass es kaum ausführbar ist, einzelne längere Zeit im Auge zu behalten. Unter den verschiedenen Verfahren, welche zu diesem Zweck Arnold erprobte, gab das folgende die besten Resultate. Aseptisch wurden Fröschen dünne Hollundermark-Plättchen von 0,05—0,25 mm Dicke, nachdem aus deren Maschen durch Kochen, Humor aqueus oder Kochsalzlösung alle Luft verdrängt war, in den Rückenlymphsack gebracht. Die Wanderzellen häufen sich in den Maschen des Hollunderplättchens an, und sind, wenn man dieses in einer Glaskammer gegen Verdunstung schützt, tagelang zu beobachten. Auch das dünne Häutchen, welches die Hollunder-Plättchen überzieht, mit der unteren Fläche an die untere Fläche des Deckglases geklebt, ist ein sehr geeignetes Objekt.

Arnold sah an diesen Präparaten Leukocyten mit polymorphem Kern in einer Stunde in zwei Zellen sich durchschnüren.

Durch Fragmentirung entstehen aus grösseren oder kleineren Wanderzellen vielkernige Zellen, von denen sich auch kernhaltige Zellen abschnüren. Wanderzellen, welche in Hollunderplättchen eingedrungen sind, siedeln sich an den Wänden seiner Zellen an, platten sich ab und werden zu epithelioiden Zellen.

Um den Kreislauf und seine Störungen bei Fröschen zu beobachten, thut man gut, die Thiere durch Curare zu lähmen. Bringt man ein Körnchen Curare von 0,5—1,0 mm Durchmesser oder zwei Tropfen Curarelösung unter die Haut eines grossen Frosches, so ist das Thier nach etwa einer halben Stunde bewegungslos, während die vegetativen Functionen weiter vor sich gehen; das geringe Sauerstoffbedürfniss des Frosches kann tagelang durch die Hautathmung allein gedeckt werden. Man kann dann hauptsächlich folgende Localitäten zum Studium des Kreislaufes benutzen.

1. Schwanz der Froschlarve. Das Thier wird narkotisirt, indem man es in ein Uhrschälchen mit Wasser giebt, dem einige Tropfen Aether zugefügt sind. Oder man curaresirt die Larve, indem man in derselben Weise etwas Curarelösung dem Wasser zufügt. Der Rumpf der Larve wird mit einigen Blättern angefeuchteten Fliesspapiers bedeckt.

2. Schwimmhaut des Frosches. Der curaresirte Frosch kommt auf ein schmales Brettchen oder eine Korkplatte zu liegen, die an passender Stelle eine runde, durch Gläschen verschliessbare Oeffnung besitzen. Statt dieser Unterlagen kann auch eine mit einem Korkring versehene Glasplatte gebraucht werden. Die Zehen des Frosches werden gespreizt und

mit kurzen Nadeln oder Igelstacheln an den Rändern der Oeffnung oder an dem aufgeklebten Korkring befestigt.

Um Verdunstung zu vermeiden, wird der Frosch mit einigen Lagen Fliesspapier bedeckt, welches feucht erhalten wird. Man verwende nur frische Frösche. Längere Zeit gefangene ertragen Curare schlecht, die Circulation erlahmt bald.

Für manche Beobachtungen ist dieses Objekt sehr werthvoll, doch steht es anderen an Durchsichtigkeit nach; auch wenn man möglichst pigmentarme Thiere aussucht, so stören doch die Pigmentzellen und die Conturen der mehrfach geschichteten Epithelzellenlagen. Entzündungsvorgänge kommen in dem straffen Gewebe nur in sehr geringer Ausdehnung zu Stande; durch die verschiedensten Irritamente erhält man entweder nur Kreislaufstörungen, Gefässdilatation und Contraction oder Nekrose.

3. Zunge. Die Zunge wird umgeklappt und wie die Schwimmhaut befestigt. Die Spannung der Zunge darf nicht zu stark sein, damit keine Blutstauung eintritt. Sie ist aber ohne Weiteres für Untersuchungen mit starken Linsen meist noch zu undurchsichtig; man entfernt daher mittelst einer feinen Scheere ein Stückchen von der früher nach oben gekehrten, jetzt unteren Fläche. Durch Schonung der sichtbaren Gefässe sucht man Blutung möglichst zu vermeiden; eventuell wird das Blut durch Kochsalzlösung abgespült. Ist das Beobachtungsfeld rein, so wird das Deckglas aufgelegt und durch Zuträpfeln von Kochsalzlösung jede Eintrocknung verhindert.

Ein so vorbereitetes Objekt ist auch für die starke Linse vollständig geeignet; die Auswanderung der weissen und rothen Blutkörper ist hier sehr gut zu verfolgen; als Entzündungsreiz wirkt die gesetzte Verwundung.

4. Mesenterium. Man verwende grosse männliche Frösche (kenntlich an dem grossen Daumenballen), um nicht durch die Eileiter und Ovarien gestört zu werden. Man macht dann in der Axillarlinie einen Hautschnitt durch die untere Hälfte des Rumpfes, die etwa eintretende Blutung hört bald auf, dann wird der Schnitt durch die Muskulatur geführt und die Bauchhöhle in der Länge von 10 bis 20 mm geöffnet. Man zieht dann mit stumpfer Pincette vorsichtig eine Dünndarmschlinge hervor, legt deren Mesenterium über den Korkring und fixirt den Darm. Zur Bedeckung dient ein rundes Deckgläschen.[1]) Man kann nun mit den stärksten Linsen untersuchen. Beträufeln mit Kochsalzlösung schützt vor dem Vertrocknen. Je vorsichtiger die Präparation ausgeführt, je mehr

[1]) Nimmt man zur Bedeckung das Fragment eines Deckgläschens oder ein gewöhnliches eckiges Deckplättchen, so ist darauf zu achten, dass die Kanten und Spitzen des Deckplättchens das Gewebe nicht verletzen. Die runden Deckplättchen sind darum für diese Zwecke vorzuziehen.

jede Spannung und sonstige mechanische Beleidigung vermieden worden ist, desto länger dauert es, bis exquisite Entzündungserscheinungen, Randstellung der weissen Blutkörper, Auswanderung, Thrombose etc. zu Stande kommt. Man ist natürlich an der präparirten Zunge wie am Mesenterium in der Lage, jeden beliebigen Insult, Verwundung etc. auf das Gewebe wie auf die Gefässe einwirken zu lassen.

Die Lunge und Harnblase des Frosches lässt sich leicht in ähnlicher Weise zur mikroskopischen Untersuchung vorbereiten.

5. Cornea. Auch die überlebende Cornea des Frosches giebt ein gutes Objekt für Beobachtung pathologischer Processe, besonders der Entzündung. Die normale oder in Entzündung versetzte Cornea (z. B. durch Aetzung) wird vorsichtig herausgeschnitten und in dem Tröpfchen Humor aqueus, der sich dabei entleert, auf den Objektträger gebracht; eventuell wird der Rand mehrfach eingeschnitten, damit die Membran sich möglichst glatt ausbreiten kann. Die Lebenserscheinungen der Zellen, sowohl der Wanderzellen wie der fixen Cornealzellen, lassen sich an der ausgeschnittenen Hornhaut noch viele Stunden lang beobachten.

b) Bei Warmblütern.

Die direkte Beobachtung des Kreislaufs beim lebenden Säugethier ist eine viel schwierigere Aufgabe; es ist erforderlich, die betreffende Membran während der Beobachtung bei Körpertemperatur zu halten. Eberth und Schimmelbusch[1]) brachten zu diesem Zweck die Thiere in ein continuirlich frisch gespeistes Bad von indifferenter Kochsalzlösung, dessen Temperatur constant auf etwa 38° gehalten wurde. Man benutzt am besten kleine Thiere (Meerschweinchen, Kaninchen), bis zu 500 gr.; die Wanne wird dann mit ihrem Boden von Spiegelglas auf den Objekttisch gesetzt; das Thier wird mit Chloralhydrat oder Chloroform und Morphium narkotisirt, der Kopf über den Rand der Wanne gelegt und das Thier passend gefesselt. Die Beobachtung geschieht am Mesenterium einer Dünndarmschlinge oder am Omentum, das durch eine Laparotomiewunde herausbefördert wird; die Mikroskoplinse wird in die warme Kochsalzlösung immergirt.

Bei grösseren Thieren steigen die Schwierigkeiten; man kann eine grössere Wanne mit Seitenwänden von Glas anwenden, in die zugleich das Thier und das Mikroskop hineingesetzt werden; das Licht wird dann durch die Seitenwand der Wanne bezogen. Oder das Thier wird in Seitenlage fixirt, in gleiche Höhe mit dem Objekttisch gebracht und nur das Omentum resp. das Mesenterium mit Darmschlinge in das Kochsalzbad gebracht. Das Hauptprincip ist die tiefe Immersion der zu beobachtenden Membran und der Objektivlinse in warme Kochsalzlösung.

[1]) Eberth und Schimmelbusch. Die Thrombose. 1888.

Das Mesenterium wird auf einer runden, auf Korkstützen über dem Boden der kleinen Wanne befindlichen Glasplatte ausgebreitet und für regelmässigen Ab- und Zufluss warmer Kochsalzlösung gesorgt. Um Abkühlung der Thiere zu vermeiden, werden sie mit warmen Tüchern bedeckt.[1]) Die normale Circulation lässt sich so 6 bis 8 Stunden bei starker Vergrösserung beobachten.

Untersuchung von Flüssigkeiten.

Ein kleiner Tropfen der Flüssigkeit wird mit Glasstab auf den Objektträger gebracht und mit dem Deckglase bedeckt. Der Tropfen soll nur so gross sein, dass die Flüssigkeit etwa nur bis zum Rand des Deckglases reicht, auch nicht zu hoch, damit das Deckglas nicht schwimmt.

Die in Flüssigkeiten suspendirten Elemente leiden mit der Zeit unter der Einwirkung des sie umgebenden flüssigen Mediums. Darum sind dergleichen Untersuchungen auf geformte Bestandtheile möglichst bald zu unternehmen, d. h. unmittelbar nach der Entleerung vom Lebenden oder von der Leiche; im letzteren Falle werden wir die Möglichkeit einer postmortalen Entstehung der gefundenen Bildungen oder postmortaler Veränderungen zu berücksichtigen haben. Da wir später im speciellen Theil auf die Untersuchung der verschiedenen Flüssigkeiten besonders zurückkommen, seien hier nur einige allgemeine Regeln gegeben.

Oft sind die in der Flüssigkeit enthaltenen morphotischen Elemente schon mit blossem Auge zu constatiren, sei es als diffuse, wolkige Trübung, sei es als gröbere Flocken oder körnige Niederschläge. Man wird zunächst diese Theile zur mikroskopischen Untersuchung verwenden, indem man sie mit einem kleinen Löffel oder einer Pincette oder Nadel oder Pipette aufsammelt und bei allmählich gesteigerter Vergrösserung betrachtet.

Sind geformte Elemente in geringer Anzahl enthalten, so untersucht man diejenige Schicht der Flüssigkeit, in der sie noch am reichlichsten zu finden sind, also meist den Bodensatz, da die geformten Elemente in den meisten Fällen specifisch schwerer sind, als die Flüssigkeit; nur die Fette schwimmen auf der Oberfläche. Weniger zu empfehlen ist es, die Flüssigkeit zu filtriren und den Rückstand von dem Filter zu sammeln, da hierbei Verunreinigungen sich nicht sicher vermeiden lassen. In anderen Fällen sind die morphotischen Elemente so reichlich, dass man eine extrem dünne Schicht anwenden muss, um zu verhindern, dass sie in mehreren

---

[1]) Kaninchen lassen sich auch ohne jede Narkose für unsere Zwecke hinreichend immobilisiren.

Für kleinere Hunde genügen zur Narkose 2—3 gr 5procentige Chloralösung subcutan. Grössere Hunde werden mit Morphium und Chloral narkotisirt. Ein mittelgrosser Hund erhält subcutan eine wässrige Lösung von Morph. sulf. (1 : 30), 7—10 Pravaz'sche Spritzen unter die Rückenhaut und dann nach und nach 1—2 gr Chloralhydrat.

Lagen übereinander liegen und sich gegenseitig verdecken. Bei sehr dicken und breiartigen Flüssigkeiten wird es nothwendig, sie zu verdünnen, um die Untersuchung möglich zu machen; wir wenden dazu Serum oder Kochsalzlösung von 0,65% an oder wir zerstören mehr oder weniger einen Theil der Elemente, um andere um so besser hervortreten zu lassen, durch Zusatz von Essigsäure verschiedener Concentration, verdünnte Kali- oder Natronlauge, wie bei der Sputumuntersuchung auf elastische Fasern, bei der Untersuchung auf Spaltpilze.

Das Centrifugiren.

Um das zeitraubende Sedimentiren und Filtriren von Flüssigkeiten behufs der Untersuchung suspendirter Theile zu umgehen, kann statt der Schwerkraft die Centrifugalkraft dienen und eine Verunreinigung der Flüssigkeiten durch in diese gelangte Keime vermieden werden.

Die von Stenbeck construirte Centrifuge[1]) wird durch die Hand oder einen Motor, oder durch Wasserkraft (Wasserleitung) in Bewegung gesetzt. Die zu untersuchende Flüssigkeit findet in cylindrischen Glasröhrchen Platz, deren Boden kugelförmig durch eine Einschnürung von der übrigen Röhre abgetrennt ist. In diesem kugelförmigen Theil sammelt sich das Sediment an. An einem horizontal rotirenden Träger befinden sich Metallhülsen zur Aufnahme der Röhrchen. Ein mit einer Kurbel versehenes Zahnrad überträgt seine Bewegung auf einen senkrecht stehenden Stab, an dessen Ende der Träger mit seinen Röhrchen sich befindet.

Die zahlreichen Drehungen bis 4000 in der Minute, welche in kurzer Zeit die Gläschen machen, ermöglichen eine rasche Sedimentirung der suspendirten Körperchen, Crystalle, Zellen, Cylinder, Mikroben etc.

Deckglastrockenpräparat.

Neben der Untersuchung des frischen flüssigen Präparates ist auch die des in der Hitze fixirten Deckglastrockenpräparates nicht zu unterlassen, besonders wenn es sich um Mikroorganismen, Blutelemente und dergleichen handelt. Siehe Deckglastrockenpräparat, Fixiren, Trocknen, Bakterienuntersuchung.

---

2. Kapitel.

Isoliren. Maceriren.

Nicht immer ist die Isolirung der Elemente auf einfach mechanischem Wege durch Zerzupfen, Zerfasern möglich. Man ist oft genöthigt, durch chemische Mittel die Zwischensubstanz zu lösen und zugleich die Theile zu erhärten.

---

[1]) Litten, M., Die Centrifuge im Dienste der klinischen Medicin. (Deutsche med. Wochenschrift 1891 No. 23 pag. 143.)

1. Die **Isolirung** wird bewerkstelligt:
   a) durch Zerzupfen mit Hilfe spitzer, polirter und gut gereinigter Nadeln aus Metall oder Glas;
   b) durch Schütteln des erweichten Präparates in einem Reagenzgläschen mit etwas Wasser oder einer anderen Flüssigkeit, indem man die Oeffnung des Gläschens mit dem Finger schliesst;
   c) durch Auspinseln mit einem feinen Pinsel;
   d) durch Zerdrücken.

Zum Zerrupfen benützt man kleine Stücke von $^1/_2$ bis 1 mm Durchmesser.

2. Als Macerationsmittel dienen: **30procentiger Alkohol** von Ranvier (Drittelalkohol).

90procentiger Alkohol wird mit dem zweifachen Volumen Wasser vermischt. Die zerkleinerten, frischen Gewebsstücke kommen auf ein bis zwei Tage in die Flüssigkeit, in der sie entweder aufgehängt oder sehr oft geschüttelt werden. Ist nach dieser Zeit die Maceration noch nicht hinreichend weit gediehen, wird die Flüssigkeit erneuert.

Für Epithelien, Nervenzellen.

3. **Kaustisches Kali, Kalilauge von 32,5%** (Moleschott), (32,5 gew. Theile Kali caustic. in baculis werden in 67,5 Theilen destillirten Wassers gelöst). Die Lösung darf nicht zu alt sein. Die Zwischensubstanz der Zellen wird gelöst, die übrigen Gewebselemente dagegen unter leichter Schrumpfung conservirt. Für glatte und quergestreifte Muskeln, Epithelien.

Kleine Gewebsstücke, z. B. Darmwand von $^1/_2$ cm Seite bedürfen zur vollkommenen Maceration je nach der Temperatur 10 bis 15 Minuten. Durch leichtes Erwärmen kann die Maceration beschleunigt werden. Die Präparate werden am besten in derselben Kalilauge verzupft, in der sie gelegen hatten. Mit Wasser dürfen sie nicht in Berührung kommen.

Will man dergleichen Präparate conserviren, so bringt man Stücke des macerirten Objektes in Essigsäure von 50%, um das Kali zu binden. Nachdem man die Theile mehrmals hin und her bewegt hat, um eine möglichst vollständige Wirkung der Essigsäure zu erzielen, werden sie in öfter gewechseltem destillirten Wasser ausgewaschen, in Alauncarmin gefärbt, in Glycerin oder Farrant'scher Lösung zerzupft.

4. **Ammoniak.** 1 Thl. auf 3 Vol. Thl. Aq. destill. macerirt (nach Monaten) Nagelsubstanz.

5. **Baryt- und Kalkwasser** ermöglichen die Isolirung der Fibrillen des Bindegewebes. Das Präparat muss frisch sein. Sehnenstücke bleiben 6 bis 8 Tage in der Flüssigkeit.

6. **Kochsalzlösung,** 10procentig, dient zur Isolirung glatter Muskeln, wenn die Präparate 24 Stunden in derselben verweilt haben.

7. **Chromsäure** von $^1/_2$ bis 1 : 10000 und in noch stärkerer Verdünnung macerirt die Zwischensubstanz, während sie die eiweisshaltigen Theile fixirt. Sie findet besonders für Hirn und Rückenmark zur Isolirung der Ganglien, Gliazellen und Nervenfasern Verwendung. Die Theile bleiben mehrere Tage in der Lösung.

8. **Doppelt chromsaures Kali** in 2procentiger Lösung oder die Müller'sche Flüssigkeit erhärten nicht nur bei längerem Aufenthalt, sondern maceriren auch bei kürzerer 2—4 Tage langer Einwirkung. Uebrigens lassen sich von Präparaten, die längere Zeit in den genannten Lösungen gewesen und gut erhärtet sind, gute Isolationspräparate gewinnen, wenn man kleine Gewebsstücke auf mehrere Stunden bis mehrere Tage in Glycerin legt und dieselben dann in Wasser zerzupft. Die Theile dürfen jedoch nicht zu brüchig sein.

9. **Chromessig und Chromessig-Osmiumsäuremischungen** (siehe Fixirung), mit dem 10—20fachen Wasser verdünnt, können ebenfalls als Isolirungsflüssigkeiten dienen.

10. **Einfach chromsaures Ammoniak** in 5procentiger Lösung isolirt die Nierenepithelien nach 24stündiger Einwirkung (Heidenhain).

11. **Holzessig** in Verdünnungen von 1 : 2—4 mit Aq. destill. macerirt nach tage- bis monatelangem Aufenthalt Muskeln, Nervenfasern (Darm, zur Darstellung der sympath. Geflechte). Die Präparate nehmen eine bräunliche Färbung an.

12. **Schwefelsäure.** Engl. Schwefelsäure dient zur schnellen Isolirung der Haarzellen. Man erwärmt in ihr die Haare, bis sie aufquellen, und zerzupft sie dann in Wasser oder Glycerin.

13. **Salpetersäure,** 20procentige, isolirt Bindegewebs- und Knochenkörperchen, Zahnröhrchen, quergestreifte und glatte Muskeln.

Bindegewebs-, Knochenkörperchen und Zahnröhrchen lassen sich nach 24stündigem Aufenthalt in concentrirter Salpetersäure (mit etwas Glycerin versetzt) in Wasser isoliren. Glatte Muskeln (frisch) lassen sich nach dreitägigem Aufenthalt, wenn man sie in einem Reagenzglas mit Wasser schüttelt, isoliren.

Quergestreifte Muskeln kommen zur Isolirung für $^1/_2$—2 Stunden in eine Mischung von Salpetersäure und chlorsaurem Kali und dann für 8 Stunden in reine Salpetersäure (Felix).

Zur Isolirung der quergestreiften Muskelfasern giebt Kühne in ein Becherglas chlorsaures Kali kryst., so dass der Boden des Glases mit einer mässig dicken Schicht bedeckt ist, feuchtet diese mit etwas Aqua dest. an, fügt das vierfache Volumen reiner conc. Salpetersäure zu und schüttelt. Mit einem Glasstab vergräbt man einen frischen Froschmuskel in dem Salze, nimmt ihn nach etwa einer halben Stunde wieder heraus und schüttelt ihn in einem Reagenzglas mit wenig Wasser. Zerfällt der Muskel noch nicht,

so wird er aufs Neue in der obigen Weise vergraben und von 5 bis 5 Minuten wieder nachgesehen.

Wittich kocht zur Isolirung frische Muskeln kurze Zeit in einer Mischung von

Aq. dest.	200	CC
Salpetersäure	1	CC
Chlorsaures Kali . . .	0,06	gr.

14. **Salzsäure.** Rein dient sie zur Isolirung der Nierencanälchen. Nieren von Embryonen oder kleinen Thieren (Mäuse) werden halbirt, 10 Stunden oder von grösseren Thieren in kleinen Stückchen 20 bis 29 Stunden in die Säure gelegt und auf 10—24 Stunden in destillirtes Wasser gebracht. Man zerstückelt oder schüttelt in Wasser Stückchen, Färbung in Vesuvin, Glycerineinschluss.

15. **Oxalsäure.** In kalt gesättigter Lösung macht sie nach stunden- bis tagelanger Einwirkung das Bindegewebe hell, die zelligen Elemente deutlich und isolirbar. Für Geruchsschleimhaut (M. Schultze) Retina, Hoden, Ovarien.

16. **Molybdänsaures Ammoniak** fixirt und macerirt in 5procentiger Lösung Retina und Hoden.

17. **Mischung von Landois:**

Neutrales chromsaures Ammoniak Kali phosphoric. . . . . . Natron sulphuric.	aa	5 gr.
Aq. destill.		100

Präparate verweilen 1—5 Tage in der Mischung, kommen nach 24 Stunden in Carmin-Ammoniaklösung, die zur Hälfte mit obiger Mischung versetzt ist. Darauf Auswaschen in Aq. dest., Zerzupfen in Glycerin. (Für Stützsubstanz des centr. Nervensystems.)

Künstliche Verdauung.

Sie dient zum Zwecke der Maceration resp. der Isolirung gewisser Gewebsbestandtheile, welche zuweilen auch für pathologische Untersuchungen, vielmehr allerdings in der normalen Histologie, Anwendung findet. Man benutzt Pepsin oder Trypsin, sogenannten künstlichen Magensaft oder Pancreas-Extrakt.

Künstlichen Magensaft bereitet man am besten aus dem Fundustheile der Schleimhaut des Schweinemagens; die Schleimhautstücke werden fein zerschnitten und etwa eine Stunde lang mit verdünnter Salzsäure, 1 pro mille, im Brütofen bei Körpertemperatur, ausgezogen; dann wird filtrirt. Man kann auch käufliches Pepsin benutzen; jedenfalls muss man die verdauende Wirkung der Flüssigkeit an einer Fibrinflocke oder einem

Stückchen von locker geronnenem Eiweiss prüfen; diese müssen in kurzer Zeit aufgelöst sein.

Das **Extrakt des Pancreas**[1]) wird folgendermaassen gewonnen:

Das Pancreas eines frisch getödteten Rindes wird in Stücke zerschnitten und mit Alkohol oder Aether im Extraktionsapparat vollständig erschöpft; die nach dem Abdunsten des Aethers zurückbleibende weisse leicht zerreibliche Masse wird mit 5—10 Gewichtstheilen Salicylsäure von 0,1 % oder auch mit destillirtem Wasser bei 40° C. etwa vier Stunden lang digerirt, dann colirt und filtrirt.

Oder man stellt von Pancreatinum siccum mit einigen ccm destill. Wassers eine kalt gesättigte Lösung dar und filtrirt. In das Filtrat wird das zu verdauende frische Gewebe gebracht und in einem Schälchen (zugedeckt) bei Körpertemperatur 3—4 Stunden im Brütschrank gehalten. Hierauf wird in Aq. dest. abgespült und das Präparat in einer Mischung von Glycerin, Alkohol 96 % und Aq. destill. zu gleichen Theilen aufbewahrt. Die Epithelien sind gelockert und lassen sich leicht mit der Nadel isoliren.

Der künstliche Magensaft verdaut in kurzer Zeit (bei Körpertemperatur) das Bindegewebe, die Muskelsubstanz, die meisten zelligen Elemente etc., während das elastische Gewebe, die Nervenfasern resistiren.

Das Pancreas-Extrakt dagegen, resp. das darin enthaltene Trypsin, löst in saurer Lösung die elastischen Fasern, ebenso die feinen Fäserchen der Neuroglia, dagegen bleiben die Bindegewebs-Fibrillen intakt. Pancreatin löst das Bindegewebe, erhält dagegen das Reticulin (Siegfried), die Gerüstsubstanz des adenoiden Gewebes.

Die Verdauung kann entweder im Brütapparat vorgenommeu werden, oder mittels des erwärmbaren Objekttisches an dem mikroskopischen Präparat selbst unter den Augen und der fortwährenden Controle des Beobachters.

Neuerdings ist durch Anwendung dieser Methode eruirt worden, dass die bei der Tabes in den Hintersträngen des Rückenmarks in grosser Menge auftretende, graue feinfaserige Substanz in der That auch chemisch mit den Fasern der Neuroglia vollständig übereinstimmt; auch sie wird schnell gelöst, während die Fasern der Pia und ihrer Fortsetzungen intakt bleiben. (Waldstein und Weber.) Das von Kuehne sogenannte Neurokeratin widersteht der Trypsinverdauung vollständig; es bleibt im Innern der Nervenfasern zurück, wenn dieselben mit heissem Aether und Chloroform, dann mit Trypsin extrahirt werden, und zwar in Form von feinen Netzen. Die Hornnetze wurden von Kuehne und vielen seiner Nachfolger als eine präformirte Struktur, ein „Horngerüst der Nervenfasern" angesehen; gegen diese Ansicht sprachen sich Hesse und Pertik, dann auch Waldstein und Weber aus.

---

[1]) Kuehne, in Verhandl. des medicin.-naturf. Vereins zu Heidelberg I, 1877.

Diese Autoren behaupten, dass das Neurokeratin ganz diffus mit dem Nervenmark vermengt sei und erst durch die Extraktions-Methoden die eigenthümliche netzartige Struktur annehme; je nach Variirung der Methode könne man auch die Form der Netze willkürlich variiren. Auch an den unregelmässig gestalteten Tropfen des ausgetretenen Nervenmarks (Myelintropfen) könnten durch die entsprechende Behandlung dieselben „Hornnetze" wie im Innern der Nervenfasern erhalten werden.

---

3. Kapitel.

Fixiren.

Allgemeines. Die Methode hat den Zweck, die Strukturen der Gewebselemente in dem Zustande, den sie während des Lebens hatten, zu erhalten, indem wir sie zur Erstarrung bringen. Sie dient aber auch zur Conservirung bereits abgestorbener Gewebe, indem sie weiteren postmortalen Veränderungen vorbeugt. In letzterem Falle fixirt man die Struktur des todten Gewebes.

Die verschiedenen Fixationsflüssigkeiten wirken meist dadurch, dass sie das Gewebseiweiss zur Gerinnung bringen, die meisten erhärten auch zugleich. Sie können dadurch Gewebsstrukturen vortäuschen (Chromsäure). Andere (Alkohol) ändern durch Wasserentziehung die Formverhältnisse.

Die Fixationsflüssigkeiten sollen eine verdünnte Säure enthalten, welche das Nuclein fixirt. Stärkere Säuren lösen dasselbe, und schwache wirken nach längerer Zeit in derselben Weise.

Die Fixationsflüssigkeit muss reichlich sein und darf das Fünfzig- bis Hundertfache des Volumens von dem zu fixirenden Objekt betragen. Sie wird, sobald sie sich trübt, durch neue Flüssigkeit ersetzt. Die Objekte sollen nur $^1/_2$ cm Durchmesser haben. Um eine allseitige und möglichst schnelle Einwirkung der Flüssigkeit zu ermöglichen, werden die Präparate aufgehängt oder über Watte, Fliesspapier, Glaswolle gelagert und öfters geschüttelt.[1]) Bei grösseren Objekten wird durch Einschnitte der Fixationsflüssigkeit Zutritt verschafft.

Das Objekt bleibt je nach der Zusammensetzung der Fixirungsflüssigkeit Stunden oder ein bis mehrere Tage oder Wochen in derselben, in Alkohol 24 Stunden bis mehrere Tage, in Chromsäure 1—2 Tage, in Salpetersäure 6 Stunden, in Osmiumsäure, Flemming'scher und Rabl'scher Lösung 24 Stunden, in Hermann'scher Mischung 1 Tag bis 1 Woche, in Sublimat 1—3 Stunden, in Pikrinsäure Tage und Wochen, in Pikrin-Salpetersäure 3 Stunden, in Erlicki'scher Flüssigkeit und der Müller'schen Mischung einige Wochen.

---

[1]) Da die Härtungsmittel nicht alle genau in derselben Weise wirken, empfiehlt es sich, Theile desselben Objekts verschieden zu fixiren.

Durch höhere Temperatur können wir auch die Fixirung beschleunigen, so besonders bei der langsam härtenden Müller'schen und Erlicki'schen Flüssigkeit und auch beim Sublimat.

Nachbehandlung der fixirten Stücke. Werden Fixirungsflüssigkeiten gebraucht, welche zugleich erhärten oder in Alkohol Niederschläge geben, wird das Auswaschen der Organe vor der weiteren Härtung unschädlich sein. Bei anderen Fixirungen (die nicht zugleich härten), bei denen in Folge der Säurebehandlung die Objekte in Wasser weich werden, ist es empfehlenswerther, entweder nicht oder nur kurz auszuwaschen und dann in allmählich verstärktem Spiritus erst 24 Stunden in 70procentigem, dann ebenso lange in 80—90procentigem und dann in 96procentigem nachzuhärten.

Hierauf folgt Färbung.

Werden lebende Gewebe, insbesondere Muskeln, mit in die Fixationsflüssigkeit übertragen, so contrahiren sie sich, und es entstehen auf diese Weise Schrumpfungen und Verlagerungen. Ganze Thiere werden darum vor dem Einlegen in die Fixirungsflüssigkeit getödtet.

Von den Fixirungsflüssigkeiten[1]) scheinen die einfachen am wenigsten allen Ansprüchen zu genügen. Einige, wie Kali bichromicum und Osmiumsäure, conserviren wohl die ganze Zellsubstanz (plasmaconservirende Mittel), eignen sich aber weniger zur Conservirung des Kerns wie die Essigsäure (kernconservirende Mittel). Die einfachen Flüssigkeiten (Alkohol, Chromsäure, Salpetersäure, Pikrinsäure, Sublimat, Formalin) conserviren das Plasma mangelhaft, besser jedoch die Kerne. Aus diesem Grund giebt man Mischungen aus beiden Mitteln den Vorzug, von denen die Gemische aus Kali bichromicum, Osmiumsäure und deren Combinationen mit Essigsäure die besten Resultate ergeben haben.

Einfache Fixirungsflüssigkeiten.

1. **Alkohol.** Zur Fixation dient Alkohol von 96 bis 100°. Nach wenigen, 3—4 Stunden, wird derselbe erneuert. Kleine Objekte von $^1/_2$—1 cm Durchmesser sind schon nach einem Tage hart. Eine unangenehme Nebenwirkung ist die Schrumpfung der Zellen. Durch heissen Alkohol wird die Härtung beschleunigt.

Nach Fixation können die Präparate in schwächerem Alkohol von 80—90 % aufbewahrt werden.

Die Alkoholfixirung kann in den meisten Fällen Anwendung finden, besonders auch für Untersuchungen auf Bacterien, welche in anderen Flüssigkeiten leicht an Färbbarkeit verlieren.

[1]) Betreffs der Fixirungsflüssigkeiten sei auf die Arbeit Tellyesniczkys über diesen Gegenstand (Archiv f. mikroskop. Anatomie 52. Bd. S. 202. 1898) verwiesen, welche auch eine Zusammenstellung der verschiedenen Fixirungsflüssigkeiten enthält.

Für das Nervensystem ist die Alkoholfixirung nur in gewissen Fällen geeignet.

2. **Chromsäure.** Reine Chromsäure zieht leicht Wasser an und ist darum wohlverschlossen aufzubewahren. Sie kommt als 0,1—0,5procentige Lösung in Anwendung. Dauer der Einwirkung 1—8 Tage, Ausspülen der Präparate in fliessendem Wasser 5 Stunden, dann kurze Zeit in destillirtem Wasser, Uebertragung in allmählich verstärkten Alkohol (im Dunkeln). Fixirt wohl Kernfiguren, jedoch weniger gut das Plasma.

Da die Chromsäure langsam eindringt, müssen die Objekte klein sein. Sie tritt in innige Verbindung mit den Geweben, und ihre Entfernung gelingt nicht ganz. Chromsäure-Präparate färben sich schwer mit Karmin, besser mit Pikrokarmin, Safranin, Hämatoxylin.

Chromsäure-Präparate, welche, ohne genügend ausgewässert zu sein, der Nachbehandlung mit Alkohol unterworfen werden, nehmen wegen Imprägnation mit einem feinen Niederschlag von Chromoxyd gewisse Färbungen schwer an. Man kann jedoch auch ohne genügende Auswässerung die Präparate der Alkoholbehandlung unterwerfen, wenn man dieselben vor Licht schützt, und spart so die Zeit für das Auswässern (Hans Virchow[1]).

3. **Kalium bichromicum und Ammonium bichromicum** dienen sowohl zur Fixirung wie zur Härtung. Insbesondere gut conservirt ersteres als 2procentige Lösung das Plasma in ähnlicher Weise wie die Osmiumsäure. Weniger geeignet sind sie für Conservirung der Kerne. Durch Beifügen kernconservirender Substanzen lässt sich dieser Mangel leicht heben (Kaliumbichromatessigsäure, Zenker'sche Lösung). Die Lösung des Kalium oder Ammonium bichromicum beträgt das 10—20fache des zu härtenden Objekts und wird nach 2, 4, 6, 10 Tagen und auch später erneuert, sobald sie getrübt ist. Kleine Objekte werden 8—14 Tage conservirt, darauf in destillirtem oder gewöhnlichem Wasser ausgewaschen und in Alkohol von steigender Concentration gehärtet. Für Härtung bleiben kleinere Stücke mehrere Wochen, grössere Monate lang in der Flüssigkeit.

Kalium bichromicum und Ammonium bichromicum finden besonders Anwendung bei parenchymatösen Organen, Epithelien, Sinnesorganen (Auge) und Centralnervensystem. Näheres bei Müller'scher Flüssigkeit.

4. **Essigsäure** als 1—5procentige Lösung fixirt zwar, findet aber wegen ihrer erweichenden Wirkung wenig Anwendung. In Verbindung mit mehr erhärtenden Reagentien ist sie ein vortreffliches Fixirungsmittel.

5. **Pikrinsäure.** Gesättigte wässrige Lösung, Dauer der Einwirkung 24 Stunden. Nach Fixation sorgfältiges Auswaschen in Alkohol und Uebertragen in 70—90procentigen Spiritus. Färbung mit Pikrokarmin.

[1]) H. Virchow, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. II. 1895.

Für feinere Conservirung scheint die Pikrinsäure wenig geeignet. Besser conservirt die Kleinenberg'sche Pikrinschwefelsäure.

6. **Osmiumsäure.** Die Osmiumsäure wird durch organische Substanzen, insbesondere Fett, reducirt, und das Osmium in feiner Vertheilung niedergeschlagen, wodurch die Theile gebräunt werden. Die Osmiumsäure reizt die Schleimhäute und ist darum vorsichtig zu gebrauchen. Sie wird im Dunkeln aufbewahrt. Die Säure dringt schwer ein und eignet sich nur für kleine Stücke. Zur Verwendung gelangt eine wässrige Lösung von $^1/_4$—1%.

Will man die Dämpfe der Säure wirken lassen, so befestigt man das Objekt mit Igelstacheln auf der unteren Fläche eines Korkes, welcher ein mit obiger Lösung gefülltes niedriges Reagenzglas schliesst. Nach einer Stunde Uebertragung in Osmiumsäure von 1 Procent.

Eine 24stündige Einwirkung der Säure (im Dunkeln) ist genügend. Darauf gutes Auswaschen in fliessendem Wasser einige Stunden, Abspülen in destillirtem Wasser und Härtung in Alkohol von steigender Concentration von 70% an. Osmiumsäure ist zur Fixation zarter Objekte besonders der ganzen Zellmasse geeignet.

Osmiumpräparate färben sich schwer mit Karmin, am besten nehmen sie Pikrokarmin, Alaunkarmin und Hämatoxylin an.

7. **Salpetersäure.** Acidum nitric. purissimum, fixirt als 3—5 procentige Lösung in 5—8 Stunden. Für gewöhnliche Zellfixirungen empfehlen sich 2—3procentige Lösungen, die nicht nur den Kern scharf, sondern auch befriedigend das Plasma conserviren. Auswaschen mit Alkohol, nicht mit Wasser, von 70% stufenweise Härtung in Alkohol, Färben in Karmin.

8. **Sublimat.** Concentrirte kaltgesättigte wässerige oder in der Wärme gesättigte (7,5 procentige) Lösung von Sublimat in 0,5 procentiger Kochsalzlösung;[1]) alkoholische Lösung 3—4% Alkohol von 50—60% oder in eine 0,5procentige Kochsalzlösung wird Sublimat in Ueberschuss gebracht und gekocht. Nach dem Erkalten scheiden sich Sublimatkrystalle aus. Zur Vermeidung von Zersetzungen wird die klare Flüssigkeit abgegossen und im Dunkeln aufbewahrt. Kleine Organstücke bleiben 10 Minuten 1 bis 24 Stunden in der Lösung, dann gründliches Auswaschen 24 Stunden lang, und dann Nachhärtung je 24 Stunden in 30-, 70- und 96procentigem Alkohol. Man kann auch ohne auszuwaschen das Objekt direkt in Alkohol von 70% übertragen.

Um die schrumpfende Wirkung des Sublimats zu verhüten, giebt man demselben Essigsäure oder etwas Osmiumsäure zu.

Concentrirte wässrige Sublimatlösung .	150 cc
Aq. destill.	150 cc
Eisessig	3—4 cc.

[1]) Durch das Kochsalz wird mehr Sublimat gelöst. Bei sublimathaltigen Lösungen und Präparaten sind Metallinstrumente, weil sie sich schwärzen, zu vermeiden.

Bei nicht sorgfältigem Auswaschen bleiben Niederschläge von Quecksilber im Präparat zurück. Man kann sich leicht überzeugen, ob alles Sublimat beim Waschen entfernt wurde, wenn man einige Tropfen Jodlösung zum Waschwasser setzt, wodurch ein Niederschlag von Quecksilberjodid entsteht.

Sublimathärtung eignet sich weniger für Leichentheile, als für ganz frische Objekte (Tumoren), deren Plasma übrigens nur mangelhaft fixirt wird. Rawitz empfiehlt, um das Sublimat aus dem Präparat zu entfernen, dem 70procentigen Alkohol soviel der officinellen Jodtinktur zuzufügen, dass er die Farbe des Portweins erhält. Man erkennt die Abgabe des Quecksilbers an das Jod an der Entfärbung des Alkohols, die am Boden des Glases, welches das Präparat enthält, zuerst auftritt. Man schüttelt um und erneuert den Jodalkohol solange, bis keine Entfärbung mehr eintritt. Die Bräunung des Objekts durch Jod geht mit der Zeit wieder durch den Alkohol verloren.

Ein brauner Niederschlag von Krystallen des Quecksilberjodid auf dem Präparat wird durch einige Krystalle von Jodkalium, welche dem Alkohol zugefügt werden, wieder gelöst.

9. **Formol.** Der Eigenschaft, die Gewebe rasch zu durchdringen und ohne auffällige Schrumpfung schnell zu härten, verdankt das Formol seine häufige Anwendung. Denn es härtet bei einer Verdünnung der käuflichen 40% Formaldehyd enthaltenden Formollösung mit destill. Wasser im Verhältniss von 1:10 = 4procentige Formollösung in wenigen Stunden.

Nach 4—8stündiger Härtung gründliches Auswaschen in Wasser, Nachhärtung in 30-, 60-, 96procentigem Alkohol.

Für rasche Behandlung werden 1 mm dicke Scheiben 4—6 Stunden in wässriger Formaldehydlösung 1:10 conservirt und nach kurzem Auswässern auf dem Gefriermikrotom geschnitten und dann gefärbt. Von frischen Präparaten sind demnach schon nach 6—8 Stunden Schnitte zu erhalten.

Eine angenehme Eigenschaft des Formols ist die gute Erhaltung der rothen Blutkörper, welche sich schön in Eosin färben.

Formalin erhält auch einigermaassen die Eigenfarbe der Organe, besonders nach dem Verfahren von Melnikow-Raswedenkow, welcher die Präparate in folgender Flüssigkeit conservirt:

Formalin . . .	100	Th.
Wasser	100	Th.
Kali chloric. . .	0.5	Th.
Natrium acet.. .	3	Th.

Grössere Theile werden injicirt, wobei jedoch, um die natürliche Farbe zu erhalten, nicht alles Blut aus den Gefässen entfernt werden darf. Kleinere Präparate bleiben 1 Tag, grössere 2—4 Tage in der Lösung.

Hierauf Härtung in starkem Weingeist, dann Uebertragen in eine Lösung aus Kali ac. 30, Glycerin 60, Wasser 100. Die bereits gebrauchte Formollösung kann öfter benutzt werden. Das Formalin scheint nach neueren Mittheilungen sich nicht für alle Gewebe zu eignen, da es das Plasma mancher Zellen schrumpfen macht.

Auch in Verbindung mit anderen Härtungsmitteln wird Formol gebraucht, wie in der Orth'schen Mischung in Verbindung mit Müller'scher Flüssigkeit (siehe deren Gemische) und in der Mischung von Fish[1]) in Verbindung mit Alkohol: 100 Theile 95procentigen Alkohols mit 10 Theilen Formol. Stücke von 0,5 cm Durchmesser werden in 12 bis 24 Stunden fixirt und in Alkohol von 95% conservirt.

Zusammengesetzte Fixirflüssigkeiten. Zwei- und mehrfache Mischungen.

Chromgemische.

1. **Chromessigsäure (Flemming).** 70 ccm 1procentige Chromsäure, 5 ccm Eis-Essig, 90 ccm dest. Wasser ungefähr ($^1/_2$% Chromsäure, 3% Essigsäure in 100 Theile dest. Wasser).

Oder $^1/_5$% Chromsäure und $^1/_{10}$% Essigsäure, Essigsäure kann noch in höheren Procenten (100 ccm 1procentige Chromsäurelösung und 10 ccm Eisessig [Io Bianco] angewendet werden.

Objekte verweilen 2—24 Stunden in der Flüssigkeit, dann sorgfältiges Auswaschen und Härtung in allmählich verstärktem Alkohol. Conservirt das Plasma besser als reine Chromsäure. Die Theilungsfiguren und Spindel sind gut. Kerne und Kernstrukturen treten klar und scharf hervor.

2. **Chromameisensäure (Rabl).** 200 ccm $^1/_3$ procentige wässrige Chromsäurelösung und 4—6 Tropfen Ameisensäure, demnach in 100 Theilen Wasser $^1/_3$% Chromsäure und 2—3 Tropfen Ameisensäure.

Die Mischung ist vor dem Gebrauch frisch zu bereiten. Conservirung 12—24 Stunden, sorgfältiges Auswaschen in destillirtem Wasser und allmähliche Härtung in Alkohol. Die Rabl'sche Mischung hat vor der Flemming'schen den Vorzug, dass die Präparate in ihr nicht nachdunkeln, weil ihr die Osmiumsäure fehlt. Wirkt wie die Chromessigsäure.

3. **Chrompikrinsalpetersäure (Rawitz).** 1procentige Chromsäure 4 Theile, Pikrinsalpetersäure (Mayer) 1 Theil.

Die Objekte bleiben 24 Stunden in der Mischung und werden dann direkt in 70procentigen Alkohol übertragen. Für Zelltheilungen.

---

[1]) Transact. Americ. Microsc. Soc. Vol. XVIII. 1897. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. XV. Heft 1. 1898, S. 69.

4. **Chromosmiumsalpetersäure (Burckardt).** 1procentige Chromsäure 200 ccm, Salpetersäure 10 ccm, 2procentige Osmiumsäure 10 ccm.

Conservirung 2—24 Stunden und darüber, Auswaschen in Wasser und langsame Härtung in Alkohol. Für Nervensystem der Amphibien und gleichzeitig zur Entkalkung. Man kann den ganzen Schädel von Amphibien conserviren und entkalken.

5. **Chromsäure — Salpetersäure — Alkohol = Perényi'sche Flüssigkeit.**

10 procentige Salpetersäure 4 ccm
96 „ Alkohol . . 3 „
0,5 „ Chromsäure . 3 „

Je 100 Theile 30procentigen Alkohol
4procentige Salpetersäure
$^1/_{10}$ „ Chromsäure.

Conservirung der Objekte 4—24 Stunden, dann ohne Auswaschen Härtung in allmählich steigendem Alkohol. Erhält sowohl das Plasma, wie den Kern. Für Hoden. Die Salpetersäure löst die Epidermis blasenförmig ab.

6. **Chromosmiumsäure-Eisessig (Flemming'sche Lösung).**

A. Schwaches Gemisch.	B. Starkes Gemisch.
Osmiumsäure $^1/_{10}$ %	Osmiumsäure $^2/_5$ %
Eisessig . . $^1/_{10}$ „	Eisessig . . 5 „
Chromsäure . $^1/_4$ „	Chromsäure . $^3/_4$ „

Oder für die starke Mischung

4 Theile 2procentige Osmiumsäure
1 Theil Eisessig
15 Theile 1procentige Chromsäure.

Die Menge der Osmiumsäure und der Essigsäure kann zwischen $^1/_{10}$—1 % variiren. Man hält sich am besten das starke Gemisch vorräthig und verdünnt dies für kleinere und weiche Objekte mit dem 10- bis 20fachen Volumen Wasser.

Die Flüssigkeitsmenge entspricht etwa dem 5fachen Volumen des Präparates. Frische Stücke von $^1/_2$ cm Durchmesser bleiben mindestens einen Tag in der Mischung, können aber auch mehrere Tage darin verweilen. Die Flüssigkeit dringt etwas schwer ein.

Auswaschen in gewöhnlichem Wasser 3 Stunden und mehr, successive Härtung während mehrerer Stunden in Alkohol von 30-, 60-, 96 %, Färbung in Safranin und Gentianaviolett in wässriger Lösung, Abspülen in Wasser, kurze Entfärbung in salzsaurem Alkohol 0,5 %, Alkohol. absol., Oel, Balsam. Kerntheilungsfiguren und Nucleolen treten besonders scharf hervor.

7. **Chromsäure und molybdänsaures Ammoniak (Altmann).** $2\frac{1}{2}\%$ molybdänsaures Ammoniak, dem $\frac{1}{4}\%$ Chromsäure zugesetzt ist. Nach 24stündiger Conservirung Uebertragung in Alkohol. Für die Granula des ruhenden Kerns.

8. **Kalium bichrom., Natrium sulfuric. Müller'sche Flüssigkeit.**

Kali bichromicum . . .	2,0—2,5
Natron sulfur.	1
Aqua destill.	100

dient sowohl zur Plasmaconservirung wie zur Härtung parenchymatöser Theile des Centralnervensystems (Auges). Für Erhaltung der Kernstrukturen ist es wenig geeignet. Anwendung und Wirkung ist ziemlich dieselbe wie die des Kali bichromic (siehe dieses). Kleine Theile werden in 8 bis 14 Tagen fixirt. Nach der Conservirung sorgfältiges Auswaschen. Die Theile sind meist ohne Weiteres schnittfähig, besonders bei längerer Conservirung; wenn nöthig, werden sie mehrere Stunden in allmählich verstärktem Alkohol nachgehärtet.[1]) Färbung in Karmin, Hämatoxylin und Anilinfarben. Bei langer Aufbewahrung in Alkohol nimmt die Färbbarkeit der Präparate ab. Bei vollständiger Härtung können die Präparate auch in dünnem Alkohol aufbewahrt werden.

Die volle Härtung kommt sehr langsam, erst im Laufe von Wochen und Monaten zu Stande, und zwar um so langsamer, je voluminöser die eingelegten Stücke sind, da das Chromsalz langsam in das Innere der Präparate eindringt; für eine Gehirnhemisphäre kann man ein halbes oder ein ganzes Jahr rechnen, dann aber erhält sie eine sehr gute Consistenz. Die Erhärtungsflüssigkeit muss reichlich sein und in der ersten Zeit öfter gewechselt werden; um das Verschimmeln der Lösung zu verhindern, fügt man ein Stückchen Campher zu. Rascher folgt die Härtung im Brutofen bei 30—40° C.

Bei langer Aufbewahrung, nach einem Jahre, wird die Flüssigkeit mit der Hälfte Wasser verdünnt. Lange Conservirung macht die Präparate (besonders Central-Nervensystem) brüchig.

Dieses nimmt dann eine sehr gleichmässige, derbe Schnittconsistenz an; dabei zeigt es bestimmte, charakteristische Farbendifferenzen schon für das blosse Auge. Die graue Substanz setzt sich von der weissen durch die hellere Färbung ab, während die letztere dunkelgrün wird; die gewöhnliche Form der grauen Degeneration oder Sklerose in den weissen Strängen zeigt einen dunkelbräunlichen Ton, während die meisten sekundären Degenerationen eine hellere Färbung als die normalen Stränge annehmen, und zwar auch in solchen Fällen, welche in frischem Zustande eine Farbendifferenz zwischen normalen und degenerirten Partien durchaus nicht zeigten.

[1]) Bei ungenügendem Auswaschen trübt sich der Alkohol. Man kann diese Trübung vermeiden, wenn man die Präparate vor Licht schützt. Sie lassen sich dann auch direkt in Alkohol übertragen, und es wird so die Zeit für das Auswaschen gespart. Bei zu starker Gelbfärbung des Alkohols ist dieser zu erneuern.

Die Chromsalze erzeugen oft fädige oder netzförmige Gerinnungen, die irrthümlich für präformirte Bildungen angesehen werden können; weiterhin sind auch die durch ihre Einwirkung entstehenden, dunkelkörnigen Niederschläge in den Zellen und Zwischensubstanzen oft sehr störend und durch chemische Mittel nur sehr schwer aufzuhellen. Kalkeinlagerungen werden durch die Chromsäure und die doppelt-chromsauren Salze allmählich aufgelöst und können so der Beobachtung entzogen werden. Mikrochemische Reaktionen sind an den mit Chromsalzen behandelten Präparaten überhaupt fast gar nicht mehr anzustellen; aus diesen und anderen Gründen empfehlen wir die Chromsalze als Härtungsmittel nur da, wo der Alkohol wegen der besonderen, chemischen Constitution nicht günstig einwirkt, also wesentlich nur beim Nervensystem oder aber bei sehr stark verfetteten Organen; stets wird dabei eine Controle der Resultate an frisch untersuchten resp. Alkoholpräparaten wünschenswerth bleiben (z. B. wegen etwaiger Verkalkungen, welche durch die Chromsäure und deren saure Salze leicht vollständig gelöst werden können).

Das einfach chromsaure Ammoniak wurde in 5procentiger Lösung von Heidenhain mit grossem Vortheil für die normalen Nieren verwendet und zwar besonders zur Demonstration der Stäbchenstruktur an den Epithelien der Harnkanälchen. Das Mittel dürfte auch für pathologisch-anatomische Untersuchungen zu empfehlen sein.

9. **Müller'sche Flüssigkeit — Formol. Kali bichromic. — schwefelsaures Natron — Formol (Orth).**

Formol 10 Theile
Müller'sche Flüssigkeit 100 Theile.

Die Mischung ist für jedesmaligen Gebrauch frisch herzustellen, da bereits nach 4 Tagen sich ein krystallinischer Niederschlag bildet. Sie härtet und fixirt gut, besonders Kernfiguren[1]) schon nach 3 Stunden im Brütofen. Nach der Härtung sorgfältiges Auswaschen.

10. **Kali bichrom. Salpetersäure (Benda).** Für Fixation von Protoplasma und Kernstrukturen, Conservirung des Rückenmarks und der Spinalganglien, speciell der Achsencylinder, der feinsten Fasern in grauer und weisser Substanz und zur Darstellung der Protoplasmastrukturen der Ganglienzellen und pathologischer Objekte. Für embryonale Gewebe ist das Verfahren nicht geeignet, und bei Härtung der äusseren Haut findet eine Quellung der Hornsubstanz statt.

Die Organe kommen möglichst frisch in eine Lösung der officinellen Salpetersäure von 10 Vol. auf 90 Vol. Wasser. Nach 24, bei grösseren Objekten 48 Stunden Uebertragen, ohne auszuwaschen, in eine kaltgesättigte Lösung von 1 Vol. Kali bichromic. auf 3 Vol. Wasser. Nach wenigen Stunden Erneuerung der Lösung und Steigen der Concentration bis 1 Vol. Kali bichromic. auf 1 Vol. Wasser. Das Eindringen der Chromsalzlösung ist durch Einschnitte zu controliren.

---

[1]) Auch bei der gebräuchlichen Formollösung geschieht dies.

Bei den meisten Organen sind mehrere Centimeter dicke Stücke in 2—3 Tagen völlig mit dem Chromsalz durchtränkt, Gehirn und Rückenmark beanspruchen bis 14 Tage. Durch Brüttemperatur wird die Durchtränkung dieser Organe beschleunigt. Nach sorgfältigem Auswaschen Schneiden mit dem Gefriermikrotom oder Vorbereitung für andere Schnittmethoden. Paraffindurchtränkung ist wegen der Härte des Gewebes nur für kleine Stücke angebracht, Celloidin ist geeigneter.

Die Färbfähigkeit ist für alle Farbstoffe vorhanden, nur verlangsamt. Bevorzugt werden Anilinfärbungen und die fractionirten Hämatoxylinfärbungen nach Weigert, Heidenhain, Benda.

11. **Kali bichrom. Essigsäure (Tellyesniczky).**

Kali bichrom. . . . 3 gr
Essigsäure . . . . 5 ccm
Wasser . . . . . 100 „

Conservirt Kern und Plasma sehr gut. Kleinere Stücke bleiben 1—2 Tage, grössere länger in der Flüssigkeit. Auswaschen in reichlichem Wasser, allmählich steigernde mit 15% beginnende Alkoholbehandlung.

12. **Kali bichrom. — Osmiumsäure (Altmann).** Möglichst kleine, dem eben getödteten Thier entnommene Stücke kommen auf 24 Stunden in eine Mischung gleicher Volumina einer Lösung

1. Kalium bichrom. 5%.
   Osmiumsäure 2%.
2. Auswaschen mehrere Stunden in fliessendem Wasser.
3. Einlegen in Alkohol von 75%, 90%, 100%.
4. Einbetten in Paraffin.
5. Anschmelzen an den Objektträger etc. für Zellgranula.

13. **Kali bichrom. — schwefels. Kupfer (Erlicki's Flüssigkeit).**

Kali bichromic. . . . 2,5 %,
Schwefelsaures Kupfer . 0,5 %,
Wasser . . . . . 100,0 %.

Sie fixirt und erhärtet besser und schneller als die Müller'sche Flüssigkeit. Präparate sind bereits in 8—10 Tagen, im Brütofen in 4—5 Tagen hart. Sie macht aber etwas Schrumpfung und in Präparaten des Centralnervensystems Niederschläge, welche verschwinden, wenn man das Präparat vor Einlegen in Alkohol in eine $^1/_2$procentige Lösung von Chromsäure bringt. Die Behandlung während und nach der Härtung ist dieselbe wie bei der Müller'schen Flüssigkeit.

Eignet sich wie die Müller'sche Flüssigkeit besser für Conservirung des Protoplasma als die des Kerns.

14. **Kali bichrom. — schwefelsaures Kupfer — Essigsäure (Kultschitzky).** In Alkohol von 50% kommt feingepulvertes doppelchromsaures Kali und schwefelsaures Kupferoxyd ad libitum. Nach 24 Stunden

löst sich ein Theil dieser Salze in absoluter Dunkelheit auf, und man erhält eine durchsichtige Flüssigkeit von gesättigt grüngelber Farbe, welcher vor dem Gebrauch Essigsäure (5 bis 6 Tropfen auf 100 Kubikcentimeter) zugefügt wird.

Je nach Grösse und Stärke des Objekts bleibt dasselbe in der Lösung 12—24 Stunden bei Lichtabschluss. Darauf kommt es in starken Alkohol 12—24 Stunden und ist dann schnittfertig.

15. **Kali bichrom. — Natrium sulf. — Sublimat — Essigsäure Zenker.**

Sublimat . . .	5,0
Kali bichrom. .	2,5
Natrium sulfuric.	1,0
Eisessig . . .	5
Wasser . . .	100

Empfehlenswerth ist es, den Eisessig kurz vor dem Gebrauch zuzusetzen.

Grosse Stücke werden 48 Stunden, kleinere nur einige Stunden conservirt. Gründliches Auswaschen in Wasser, Nachhärten in 30-, 60-, 96procentigem Spiritus.

Reste der Sublimatniederschläge werden wie bei der Sublimathärtung durch Jodalkohol (siehe Sublimat) entfernt.

Für die Weigert'sche Markscheidenfärbung bleiben die Theile 14 Tage in der Flüssigkeit.

Zenker's Flüssigkeit empfiehlt sich nicht nur durch Billigkeit, sondern auch durch die gute Conservirung des Plasma, der Kernstruktur, des Centrosoms wie der Spindel und leichte Färbbarkeit. In dieser Hinsicht rivalisirt sie mit der Flemming'schen Mischung. Das schwefelsaure Natron wie das Sublimat scheinen von untergeordneter Bedeutung zu sein.

16. **Alkoholessigsäure.**

Alkohol 96⁰	80 %
Eisessig	20 „

Nach 3stündiger Conservirung, Waschen in absolutem Alkohol. Tadellose Conservirung der Kerne.

17. **Chromessigsäure (Flemming).**

Chromsäure	½ %
Essigsäure	3 „
Wasser 100.	

Pikringemische.

Pikrinschwefelsäure, Pikrinsalpetersäure, Pikrinchromsäure, Pikrinsublimat sind in ihrer Wirkung wenig verschieden. Die beiden ersten, besonders die Pikrinschwefelsäure conserviren gut den Kern und die Spindel.

18. **Pikrinessigsäure (Hertwig).** 100 ccm kalt gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung und 3—5 ccm Essigsäure.

Conservirung der Objekte $^1/_2$ Stunde bis 1 Tag. Uebertragung in 70procentigen Alkohol, der allmählich verstärkt wird. Für Eier und Embryonen.

19. **Pikrineisessig (Dawidoff).** 3 Theile gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung, 1 Theil Eisessig. Conservirung 3—4 Stunden, Uebertragung in Alkohol von 70%, der häufig erneuert wird. Für Eier von Ascidien. Alkohol absol. darf nicht zu lange einwirken, da die dotterreichen Eier sonst zu hart werden.

20. **Pikrinschwefelsäure (Kleinenberg).** Kalt gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung 100 ccm, concentrirte Schwefelsäure 2 ccm, Aqua font. 300 ccm. Die nach Zusatz der Schwefelsäure ausfallenden Krystalle von Pikrinsäure lösen sich nach Zusatz von Wasser wieder. Oder man filtrirt dieselben ab und verdünnt das Filtrat mit 3 Vol. Wasser.

Conservirung der Objekte 3 Stunden. Uebertragen ohne zu waschen in 70procentigen Alkohol, der so lange gewechselt wird, bis alles Pikrin ausgezogen ist. Hierauf 80—90procentiger Alkohol.

Quellung des Bindegewebes wird durch Zusatz von Creosot, so viel als sich löst, vermieden.

Die Flüssigkeit dringt schwer ein, ist darum für parenchymatöse Organe nicht zu brauchen. Bei Gegenwart von Kalksalzen entstehen Niederschläge von Gyps.

21. **Pikrinsalpetersäure (Paul Mayer).** 100 ccm kalt gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung, 2—3 ccm officinelle Salpetersäure. Man schüttelt mehrmals die Mischung und filtrirt nach 24 Stunden.

Nach 10 Minuten bis 24 Stunden langer Conservirung Uebertragung direkt in 70procentigen Alkohol und langsame Härtung.

Reste von Pikrinsäure im Präparate schaden nur bei Anwendung säureempfindlicher Farben. 24stündiger Aufenthalt der Schnitte in 70 procentigem Alkohol und Zusatz einiger Tropfen kalt gesättigter wässriger Lösung von Lithium carbonic zu dem 96procentigen Spiritus, in dem die Präparate aufbewahrt werden, entfernt die Pikrinfärbung ganz.

Für Organe von Wirbelthieren, Embryonen, Wirbellosen und für Nematoden.

22. **Pikrin — Osmium — Essigsäure (Rath).** 200 ccm concentrirte Pikrinsäure, 12 ccm 2procentige Osmiumsäure, 2 ccm Essigsäure. Sie ist eine modificirte Flemming'sche Mischung, in der die Chromsäure durch Pikrinsäure ersetzt ist. Sie erreicht aber nicht die Wirkung dieser. Das Plasma ist wohl zum Theil gut conservirt, zum Theil auch geschrumpft, die Kerne färben sich aber diffus.

23. **Pikrin — Sublimat — Essigsäure (Rath).** Concentrirte Pikrinsäure, concentrirtes Sublimat und 1procentige Essigsäure. (100 Theile

conc. Pikrinsäurelösung, 100 Theile conc. Sublimatlösung, 2 Theile Essigsäure.) Weicht kaum von dem Pikrinsublimat in der Wirkung ab und steht noch hinter der obigen Lösung. Die 1procentige Essigsäure vermag die Nachtheile des Pikrinsublimats nicht aufzuheben. Das Plasma ist zusammengeschrumpft und ein Theil des Kernes färbt sich diffus. Die Theilungen sind verhältnissmässig schön.

Osmiumgemische.

24. **Osmiumessigsäure.** 50 ccm einer 0,2procentigen Essigsäure und 0,05procentigen Osmiumsäure werden gemischt. Nach 5—15 Minuten Auswaschen in 1procentiger Essigsäure. Aufbewahrung in Glycerin. Für Nervensystem der Wirbellosen.

25. **Osmiumsäure und Nachbehandlung mit Tannin (Rawitz).** Zur Reduction der Osmiumsäure werden die gut gewaschenen osmirten Objekte 24 Stunden in eine 20procentige Tanninlösung gebracht. Hierauf mehrstündiges Auswaschen und langsame Alkoholhärtung. Der Alkohol wird so lange gewechselt, bis er klar wird.

Sublimatgemische.

26. **Sublimat — Eisessig (Lang'sche Flüssigkeit).** 3 Theile gesättigter wässriger Sublimatlösung, 1 Theil Eisessig. Nach $^1/_2$—1 Stunde Waschen der Objekte in destillirtem Wasser 10 Min., Uebertragung in 40procentigen Alkohol für 1 Stunde, hierauf in allmählich verstärkten Alkohol. Für dotterreiche Eier.

27. **Sublimat — Essigsäure, lo Bianco.** 100 ccm concentrirte wässrige Sublimatlösung und 50 ccm concentrirte Essigsäure; in 100 Theilen (77 Theile gesättigte Sublimatlösung, 33 Theile Essigsäure). Behandlung wie bei Sublimat. Fixirt das Plasma vollständig, die Kerne unvollständig.

28. **Sublimat — Chromsäure, lo Bianco.** 100 gr gesättigter wässriger Sublimatlösung gemischt mit 50 ccm 1procentige Chromsäurelösung. Nach 24 Stunden und mehr Auswaschen in destillirtem Wasser, Uebertragen in Jodalkohol und langsame Härtung.

29. **Sublimat — Salpetersäure (Frenzel).** Zu gleichen Mengen gesättigter wässriger Sublimatlösung und Alkohol absol. kommt auf je 1 ccm der Mischung 1 Tropfen officineller Salpetersäure. Nach der Fixirung langsame Härtung. Salpetersäure verhindert die Sublimatniederschläge. Für Fixirung von Insekten.

30. **Sublimat — Chromsäure.** 100 ccm gesättigte wässrige Sublimatlösung und 50 ccm 1procentige Chromsäurelösung; Conservirung 24 Stunden und mehr, Auswaschen in destillirtem Wasser, Jodalkohol-Nachhärtung. Für verschiedene Objekte.

31. **Sublimat — Pikrinsäure.** Gleiche Theile gesättigter wässriger Sublimatlösung in Kochsalzwasser und gesättigter wässriger Pikrinsäure-

lösung werden gemischt. Kleine Objekte bleiben 1—24 Stunden in der Mischung und werden öfters in derselben bewegt. Direkte Uebertragung in allmählich verstärkten Alkohol. Für Embryonen und alle Organe (?).

32. **Sublimat — Pikrinsäure — Tannin (Mann'sche Flüssigkeit).** 100 ccm concentrirter, in Kochsalz gesättigter Sublimatlösung, 1 gr Pikrinsäure und 2 gr Tannin. Nach 24stündiger Conservirung Uebertragen der Präparate in 70procentigen Alkohol, der etwas Jod enthält. Erfolgt keine Entfärbung des Jods mehr, Nachhärtung. Die makroskopische Form bleibt wohl gut erhalten, aber Plasma wie Kern werden deformirt.

Platinchloridgemische.

33. **Platinchlorid — Chromsäure (Merkel'sche Flüssigkeit).**

Chromsäure	1procentige Lösung	100	Raumtheile
Platinchlorid	1 „ wässrige Lösung	100	„
Wasser		600	„

oder

1/4procentige	Chromsäure
1/4 „	Platinchlorid

zu gleichen Theilen.

Conservirung einige Stunden bis mehrere Tage. Direkte Uebertragung in Alkohol und langsame Härtung. Für Kernfiguren und Plasmastrukturen.

34. **Platinchloridosmiumessigsäure (Hermann's Gemisch).**

Osmiumsäure 2—4procentig	2 Thle.	oder Osmiumsäure 2procentig	4 Thle.
Essigsäure	1 Thl.	Essigsäure	1 Thl.
Platinchlorid 1procentig	15 Thle.	Platinchlorid 1procentig	15 Thle.

Für Kernfiguren bei Säugern.

---

35. **Fixiren durch Hitze, Kälte und Trocknen.** Wir können in der Hitze sowohl feucht wie trocken fixiren. Das Erstere erreichen wir, wenn wir kleine Objekte in einem dünnwandigen Reagenzglas 20 bis 40 Minuten auf 60° Celsius erhitzen, oder sie mit dem Reagenzglas unter öfterem Schütteln in Wasser von 60° tauchen oder für einige Minuten in kochendem Wasser oder kochender verdünnter physiol. Kochsalzlösung lassen und dann in Alkohol härten. Flüssigkeiten, Blut fixiren wir durch Trocknen in dünnen Schichten und nachheriges Erhitzen (siehe Deckglastrockenpräparat).

Altmann lässt frische Organstücke gefrieren und trocknet sie in gefrorenem Zustande bei einer Temperatur unter — 20° über Schwefelsäure im Vacuum vollständig aus. Man erhält so in ihren Volumen unveränderte Präparate, denen nur das Wasser fehlt.

---

4. Kapitel.

Härten.

Nicht immer wird durch die Fixirung zugleich eine solche Härtung erreicht, welche das Präparat schnittfähig macht. Darum sind die meisten fixirten Präparate noch nachträglich in Erhärtungsflüssigkeiten zu bringen. Zu diesem Zwecke werden sie nach ausreichender Fixirung in Wasser ausgewaschen[1]) und dann in Alkohol gebracht.[2])

Der Alkohol, wo er als alleinige Härtungsflüssigkeit Verwendung findet, wird bei kleineren Stücken als absoluter Alkohol gebraucht. Theile, die in anderer Weise fixirt sind, werden erst auf 12—24 Stunden nach gehörigem Auswaschen in Alkohol von 70% und hierauf in Alkohol von 90—96% gebracht, wo sie nach 24—48 Stunden gehärtet sind.

Man trägt Sorge, dass das Präparat von Alkohol umgeben ist, indem man etwas Watte, Papier oder Mullbäuschchen unter dasselbe legt oder dasselbe öfter schüttelt.

Von anderen Flüssigkeiten, die zugleich härten, sei das doppeltchromsaure Kali und Ammoniak, die Müller'sche Flüssigkeit, die Erlicki'sche Flüssigkeit, Pikrinsäure in gesättigter wässriger Lösung, Osmiumsäure, ½procentiges Formol, Merkels Platinchloridchromsäure genannt. Ihre Anwendungsweise siehe unter Fixiren. Durch die eben aufgezählten Flüssigkeiten erlangen die Objekte auch ohne Anwendung von Alkohol eine schnittfähige Consistenz.

Das Kochen.

Die zuerst durch Posner[3]) empfohlene Methode (nach einer von Perls gegebenen Anregung) findet insbesondere zu dem Zwecke Anwendung, das gelöste Eiweiss rasch und sicher in loco niederzuschlagen und dadurch kenntlich zu machen.

Organstücke von etwa Haselnuss- bis Walnuss-Grösse werden in kochendes Wasser geworfen, nach einigen Minuten, 2 und mehr, herausgenommen und in kaltem Wasser abgespült; gewöhnlich haben sie dann eine mässig derbe, elastische Consistenz angenommen und können mit dem Rasirmesser direkt geschnitten werden, oder sie kommen zur vollständigen Erhärtung noch in Alkohol. Das geronnene Eiweiss tritt als eine körnige Masse an solchen Präparaten sofort in die Erscheinung; ausserdem erscheinen die meisten Conturen der Zellen etc. auffallend scharf.

---

[1]) Ausgenommen sind die in Salpetersäure 3% und Pikrinschwefelsäure fixirten Objekte, welche aus diesen Flüssigkeiten direkt in 70procentigen Alkohol, der noehmals erneuert wird, kommen.

[2]) In Müller'seher Flüssigkeit conservirte Präparate müssen sorgfältig ausgewasehen sein, sonst trübt sich der Alkohol, in dem sie aufbewahrt werden. Die Trübung ist zu verhüten durch Aufbewahrung im Dunkeln. Bei zu starker Gelbfärbung ist der Alkohol zu erneuern. Siehe Chromsäure.

[3]) Posner, Vireh. Archiv. Bd. 79, S. 311.

Die Methode hat besondere Vorzüge für die Untersuchung der Nieren bei Albuminurie und von Lungenödem, Cysteninhalt. Werden derartige Organe nur in Alkohol gehärtet, so gelingt es zwar auch, das körnig coagulirte Eiweiss innerhalb der Malpighi'schen Kapseln resp. der Alveolen nachzuweisen; besonders in den oberfläehlichen Theilen des Präparats, die der Einwirkung des Alkohols am direktesten ausgesetzt waren; indessen geschieht dies viel vollständiger mittelst der Koehmethode, durch welche eine prompte und vollständige Coagulation in kürzester Zeit erzielt wird. Abgesehen von dieser Wirkung werden die meisten Strukturen durch kurzdauernde Einwirkung der Kochhitze nur wenig verändert.

Man kann auch die gekoehten Präparate dann mit dem Gefriermikrotom sehneiden.

Das Trocknen

der Präparate wurde früher vielfach zu dem Zwecke vorgenommen, um sie gut sehnittfähig zu machen. Sie schrumpfen dabei stark ein, die Schnitte quellen dann zwar im Wasser wieder auf, jedoch sehr unregelmässig. Auch die Strukturen bleiben nieht bei allen Geweben gleich gut erhalten, so dass die Methode nur in wenigen Fällen Anwendung findet, wo es nicht zu sehr auf Erhaltung feiner Verhältnisse ankommt. Wir benutzen darum häufiger und erfolgreieher die versehiedenen Härtungsmethoden, insbesondere die mit Alkohol, eventuell bei porösen oder besonders weichen Gegenständen Imbibition mit Gummischleim, mit Photoxylin, Celloidin und Paraffin.

Dagegen findet das Trocknen sehr häufig Anwendung bei Untersuchung von morphotischen Elementen in Flüssigkeiten. Siehe Deckglastrockenpräparat.

Das Gefrieren.

Die Gefriermethode, vielleicht mit Ausnahme der von Altmann (S. O. Fixiren) gebrauchten Methode mit nachfolgendem Austrocknen, mag man sie anwenden auf fixirte oder nieht fixirte Präparate, stört mitunter durch Bildung der Eiskrystalle die feinere Gewebsstruktur. Sie hat dagegen den grossen Vortheil, wenn es auf Erhaltung feiner Strukturverhältnisse nieht so sehr ankommt, dass sie in kurzer Zeit die Anfertigung von übersichtlichen Präparaten gestattet, was ja unter Umständen zur raschen Stellung einer Diagnose sehr wünsehenswerth ist.

Auf einer rauhen Metallplatte, wie solehe den meisten Mikrotomen beigegeben sind, lässt man das mit Wasser befeuchtete Objekt anfrieren,[1]) indem man dureh den Aetherspray von unten dieselbe auf den Gefrierpunkt bringt. Die Schnitte werden friseh in Kochsalz untersucht oder gefroren oder aufgethaut mit Alkohol fixirt. Um Faltungen derselben zu

[1]) Das Präparat muss alkoholfrei sein.

vermeiden, überträgt man sie von der Klinge in eine verdünnte Lösung Müller'scher Flüssigkeit. Alkoholpräparate werden vor dem Gefrieren in Wasser gelegt.

Hamilton (Journal of Anat. and Phys. 1878) durchtränkt vor dem Gefrieren die erhärteten Objekte mit Zuckersyrup (60 gr Zucker und 30 gr Wasser) und Cole (Methode of the microscopical Research 1884) legt die erhärteten Stücke in eine Mischung von Gummi (5 Theile) und Zuckersyrup (3 Theile) mit einigen Tropfen Carbolsäure.

Der Gummischleim wird hergestellt aus:

Gummi	120	gr
Destill. Wasser . .	180	„

Zuckersyrup wird erhalten aus:

Zucker	372	gr
Warmes Wasser .	37	ccm.

Letzteres Verfahren, welches in meinem Laboratorium vielfach geübt wurde, ist sehr zu empfehlen.

---

5. Kapitel.

Entkalken.[1])

Um gute Schnitte durch verkalkte Partien: Knochen, Zähne, verkalkte Geschwülste etc. anzufertigen (die frühere Methode, feine Schliffe zu untersuchen, reicht für unsere Zwecke nicht aus), muss der Kalk entfernt werden.

Dieses Verfahren ist aber ein sehr eingreifendes und die Gewebe müssen erst vorbehandelt werden, dass die Entkalkung sie nicht zu sehr schädigt. Wir fixiren darum zuerst die Präparate in Alkohol, Müller'scher oder Zenker'scher Flüssigkeit und behandeln dann kleine Stücke derselben mit verdünnten Säuren. Bei dem Entkalkungsverfahren ist zu beachten:

1. dass nur kleine Stücke gut fixirt werden;
2. dass die Entkalkungsflüssigkeit reichlich ist, oft (alle 3—8 Tage) gewechselt wird, und nicht allzu lange und zu eingreifend wirkt;
3. dass die Stücke sorgfältig von der Säure durch Auswaschen in Brunnen- und dann in destillirtem Wasser befreit werden. Eventuell wird mit Ammoniak neutralisirt, falls die Auswaschung keine genügende war, und dann kurze Zeit in destillirtem Wasser gewaschen. Dann stufenweise Härtung in Alkohol von 40, 70, 96%.

---

[1]) Haug, Die gebräuchlichsten Entkalkungsmethoden. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik. Bd. VIII. 1891.

Eine vollkommene und schonende Entkalkung erfordert immer eine geraume Zeit. Es bleiben sonst unentkalkte Stellen zurück, welche beim Schneiden das Messer verderben.

Knochen von Embryonen können schon in einigen Tagen, die Tibia eines Neugeborenen in 3 Wochen entkalkt werden. Bei grösseren und älteren Knochen erfordert die Entkalkung mehrere Monate.

Gesättigte wässrige Pikrinsäure entkalkt nicht nur, sondern härtet auch, jedoch erst nach Monaten, und färbt zugleich. Dann Auswaschen, Entfärbung in Alkohol, dass noch ein leicht gelblicher Ton erhalten bleibt.

Zusatz von Salpetersäure (3—5%) zur Pikrinsäure wirkt rascher.

Pikrinschwefelsäure von Kleinenberg ist wegen der Bildung von Gypskrystallen weniger zum Entkalken geeignet.

Milchsäure. In Lösungen von 10% und darüber entkalkt sie schonend und rascher als Pikrinsäure. Sie empfiehlt sich für kleinere Stücke, besonders embryonale Knochen.

Phosphorsäure. In 10—15procentiger Lösung entkalkt sie langsam.

Holzessig. Entkalkt in concentrirter Lösung besonders gut embryonale Knochen und erhärtet zugleich. Die Entkalkung ist keine sehr schnelle.

Salzsäure. Rein, nicht rauchend, dient zum Isoliren von Zahnröhrchen und Knochenkörpern. Verdünnt entkalkt sie schneller wie die übrigen Säuren schon in wässrigen Lösungen bis 10%, macht jedoch die Grundsubstanz quellen, wodurch feinere Strukturen (Knochenlamellen) undeutlich werden. v. Ebner hat diesen Uebelstand durch Zugabe von Kochsalz vermieden.

Salzsäure 4 cc,
Aq. dest. 100 cc,
Chlornatrium 100 cc kalt gesättigte Lösung.

Dieser Lösung werden täglich 1—2 cc Salzsäure so lange zugegeben, bis die Knochen weich sind. Dann Auswaschen in Wasser oder dünner Kochsalzlösung (Neutralisiren in Ammoniak ist bei sorgfältigem Auswaschen unnöthig).

v. Ebner hat, um bei längerem Verweilen in dieser wässrigen Lösung etwa eintretende Veränderungen auszuschliessen, auch noch eine alkoholische Kochsalzlösung angewandt.

Acid muriat. Cl Na ana	2,5
Alkohol	500
Aq. dest.	100

Haug empfiehlt

Acid mur.	1,0
Cl Na	0,5
Alkohol	70,0
Aq. dest.	30,0.

Für rasche Entkalkung kann man auf 5—10% Salzsäure gehen, muss aber dementsprechend den Salzgehalt auf die Hälfte des Säurezusatzes erhöhen.

Waldeyer verwendet Salzsäure in Verbindung mit Chlorpalladium.

Palladiumchlorid 0,01
Salzsäure von 1pCt. . . 1000,0

Auswaschen, successives Nachhärten in Alkohol von 30-, 60-, 90% (für das Gehörorgan).

Chromsäure, ihre Salze und Gemische. Die Müller'sche Flüssigkeit wirkt durch den geringen Gehalt an Chromsäure nicht nur erhärtend, sondern entkalkt auch.

Aber sie, wie die Chromsäure, beansprucht für die Entkalkung lange Zeit (Wochen und Monate) und findet darum nur Verwendung für kleine Stücke: Theile von Embryonen. Häufiger Wechsel der Flüssigkeit (alle 3—5 Tage) ist nothwendig. Rascher wirkt sie bei Zusatz von Salpetersäure (1 ccm auf 200—300 ccm Flüssigkeit).

Von Chromsäure verwendet man eine 2procentige Lösung eventuell, um schneller zu entkalken, mit einem Zusatz von Salzsäure: Chromsäure 1,0, Salzsäure 1,0, Aq. destill. 100,0.

Für Entkalkung des Felsenbeins fixirt Waldeyer zuerst in Chromsäure 1,0 : 600,0, härtet dann in steigender Concentration von 1,0 : 400,0 und 1,0 : 200,0 und entkalkt mit der letzten Concentration, der für 100 cc der Lösung 2 cc reiner Salpetersäure zugegeben werden. Wechsel der Entkalkungsflüssigkeit alle 6 Tage.

Zarte Objekte können auch in Chromosmiumsäure (1procentige Osmiumsäure 10 cc, 1procentige Chromsäure 25 cc, Aq. destill. 65 cc) entkalkt werden. Nach der Entkalkung mit Chromsäure oder Chromosmiumsäure werden die Präparate in Wasser, destillirtem Wasser und Alkohol von 70% im Dunkeln ausgewaschen.

Die lange Dauer der Entkalkung, die Bildung von Gerinnungen in nervösen Apparaten sind Uebelstände der Chromsäureentkalkung.

Salpetersäure. Rein, nicht rauchend, isolirt sie Knochenkörperchen und Zahnröhrchen. Zur Entkalkung dienen Lösungen von 3—9% in Wasser oder Formalinlösung. Sie wirkt schonend und erhält besser als Salzsäure die Strukturverhältnisse. Eignet sich besonders für die Knochen Erwachsener.

Noch schonender wirkt sie in Verbindung mit Alkohol und Kochsalz (Haug).

Acid. nitric. pur., spec. Gewicht 1,5—1,2, 3,0—9,0
Alkohol absol. 70,0
Aq. destill. 30,0
Cl. Na. . . . . 0,25.

Die so entkalkten Präparate färben sich gut.

Phloroglucin. Das von Andeer[1]) empfohlene Verfahren übertrifft an Schnelligkeit alle anderen, ist sehr schonend, nur wird das Blut stark verändert. Phloroglucin löst an und für sich nicht die Knochensalze, sondern schützt die Gewebe vor dem Einfluss der starken Mineralsäuren.[2])

1 gr Phloroglucin wird in 10 cc reiner, nicht rauchender Salpetersäure langsam und vorsichtig unter dem Abzug des chemischen Heerdes unter Schütteln gelöst. Es bildet sich unter Zischen das dunkel rubinrothe salpetersaure Salz. Diese salpetersaure Phloroglucinverbindung wird mit 100 cc 10procentiger wässriger Salpetersäure verdünnt.

Das Präparat (gut fixirt und ausgewaschen) kommt in diese 20procentige Salpetersäure-Phloroglucinlösung. In derselben werden zarte Knochen schon in einer halben Stunde bei Zimmertemperatur völlig weich.

Ist das Präparat hinreichend weich, kommt es auf 2 Tage in fliessendes Wasser.

Statt der Salpetersäure kann in demselben Lösungsmodus auch Salzsäure (30%) verwendet werden mit einem Zusatz von Kochsalz von 0,5%.

Für langsame Entkalkung werden Lösungen mit 2—5% Säure verwendet:

Phloroglucin	1,0
Acidum nitric.	5,0
Alkohol	70,0
Aqua destillat.	30,0.

Entkalkung nach Thoma:

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit,
2. Entkalkung in einer öfter zu wechselnden Lösung von 36procentigem Alkohol 5 Raumtheile und officineller, reiner concentrirter Salpetersäure 1 Raumtheil,
3. Abspülen in Alkohol,
4. Uebertragung in öfter zu wechselnden Alkohol, der präcipitirten kohlensauren Kalk im Ueberschuss enthält.

Dauer der Entkalkung bei grösseren Stücken ca. 2—3 Wochen.

Um das Anhaften von Kalkpulver zu vermeiden, werden die Stücke mit Fliesspapier umhüllt.

Die Entfernung der Säure in kalkhaltigem Alkohol beansprucht 8—14 Tage und ist auch dann noch zu wiederholen, wenn auch das Lackmuspapier keine Säure mehr anzeigt.

---

[1]) Andeer, Das Resorcinderivat Phloroglucin. Centralblatt f. med. Wissenschaften 1885, No. 12, und Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. II. 1885.

[2]) Haug, Ueber eine neue Modification der Phloroglucinentkalkungsmethode, Centralblatt f. allgem. Pathologie und patholog. Anatomie. Bd. II, 1891, pag. 193.

6. Kapitel.

Injektion.

Wer für eine Injektion der Blutgefässe Thiere zu tödten beabsichtigt, narkotisire dieselben sehr vollständig und lasse sie in der Narkose verbluten. Durch die erschlafften Gefässe dringt die Injektion leichter ein und die Füllung wird vollständiger.

a) Injektionsmasse.

Als solche benutzen wir eine durchsichtige, intensiv gefärbte Flüssigkeit (kaltflüssige Masse), eventuell eine solche, die innerhalb der Gefässe fest wird, also meist eine Leimmasse; bei Anwendung der letzteren muss die Injektionsmasse und das zu injicirende Organ auf höhere Temperatur, 40—50° C., gebracht werden (warmflüssige Masse).

Man gebraucht hierzu grössere, event. mit Wasser gefüllte Blechwannen, die von unten her erwärmt werden.

Die Leiminjektionen sind daher etwas umständlicher, aber wegen der Stabilität der Masse vorzüglicher als die wässerigen Lösungen. Nach vollendeter Injektion mit Leimmasse wird das Organ oder Thier, um die Injektionsmasse schneller zu erstarren, abgekühlt. Conservirung in Alkohol von 80—90%.

Kaltflüssige Masse.

Die mit kalter Masse injicirten Organe kommen in Alkohol und werden nach mehreren Stunden in kleine Stücke zerlegt.

Injektion mit blauer Masse.

Hierzu dient lösliches Berlinerblau,

1. Lösliches Berlinerblau 1,0
   Aqua destill. 20,0

das vom Droguisten bezogen werden kann. Zuweilen löst sich dasselbe erst nach Zusatz von etwas Oxalsäure; eine derartige Lösung kann direkt zur Injektion benutzt werden, event. mag man noch je 5 Theile Alkohol und ebenso viel Glycerin zufügen.[1])

Das kaltflüssige Berlinerblau ist ausser für Blutgefässe besonders für Darstellung der Gallengänge, Saftlücken sehr geeignet.

2. Injektionsflüssigkeit von Cohnheim.

   Anilinblau 1,0
   0,5procentige Kochsalzlösung 600,0.

---

[1]) In Wirklichkeit handelt es sich nicht um eine eigentliche Lösung der Farbe, diese ist nur niedergeschlagen, aber in so feiner Vertheilung, dass der Eindruck einer Lösung entsteht.

Wird beim lebenden Thier in Absätzen in das peripherische Ende der Arter. femor. injicirt.

Kaltflüssige Karmininjektion von Kollmann. 1 gr Karmin wird mit 1 gr Ammoniak und ein wenig Wasser gelöst und mit 20 ccm Glycerin verdünnt. Zu dieser Lösung wird eine Mischung aus 20 ccm Glycerin und 18—20 Tropfen Salzsäure vorsichtig unter starkem Schütteln zugesetzt und das Ganze dann mit 40 gr Wasser verdünnt.

Namentlich zur Injektion der feinsten Lymphbahnen werden noch andere Injektionsmassen verwendet, so z. B. ölige Flüssigkeiten, die man auch mit Alkanna färben kann, gewöhnlich Terpentinöl; auch Chloroform, in welchem ein dunkler Harzkörper, etwa Asphalt, gelöst ist, dient als Injektionsmasse.

Durch nachherige Behandlung der mit Oel injicirten Theile (in dünnen Schnitten) mit Osmiumsäure 1 % (24 Stunden) oder Goldchlorid 1 % (ebenso lange) erhält man eine schwarze resp. blaue Färbung des Oels.

Salpetersaures Silber und salpetersaures Silberammoniak werden, ersteres in einer $^1/_4$procentigen, letzteres in einer Lösung, die 0,75—0,8 % Höllenstein entspricht, zur Darstellung der Kittlinien zwischen den Gefässendothelien eingespritzt. Der Silberinjektion kann man noch eine concentrirte Gelatinelösung nachschicken, nachdem das Objekt erwärmt wurde; Härtung in Alkohol.

Injektion mit kaltflüssiger blauer Masse unter constantem Druck nach Paul Mayer: 20 gr gelbes Blutlaugensalz (Ferrocyankalium) werden in 500 ccm Wasser gelöst. 10 ccm des liquor sesquichlorati der Pharmakopöa germ. werden ebenfalls mit 500 ccm Wasser verdünnt und unter stetem Umrühren zur ersten Lösung gegossen, so dass ein Ueberschuss von Blutlaugensalz vorhanden ist. Nach 12stündigem Stehen wird die gelbe Lösung abgegossen, die blaue filtrirt. Das Filtrat wird mit destillirtem Wasser so lange ausgewaschen, bis es tiefblau ist, was 1—2 Tage dauert. Der Filterrückstand wird durch wiederholtes Aufgiessen von Wasser aufgelöst. Man erhält so 1 Liter Injektionsmasse. Durch Zusatz von etwas Essigsäure wird bei alkalisch reagirenden Organen ein Abblassen der Farbe verhütet.

Um unter constantem Druck zu injiciren, verbindet man eine 10 Liter fassende leere Flasche mit einem Doppelgebläse wie beim Sprayapparat. Durch wiederholte Compression des Gummiballons wird die Luft in der Flasche comprimirt, und da diese durch Canüle mit der Flasche, welche die Injektionsmasse enthält, in Verbindung steht, letztere durch eine Canüle ausgetrieben. Der Druck in der Luftflasche wird durch ein Manometer gemessen.

Corrosionsmethode. Altmann hat zur Herstellung von Corrosionspräparaten die Gefässe mit Gemischen aus 2 Theilen Oleum Ricini

und 1 Theil Alkohol injicirt und dann die Organe in 1procentige Osmiumsäure gebracht, bis sie vollkommen schwarz waren, was 1—2 Tag dauert. Nach Härtung in Alkohol werden nicht zu dünne Schnitte mit Eau de Javelle behandelt, wodurch alle zelligen und bindegewebigen Theile zerstört werden.

Warmflüssige Masse (Leimmasse).[1])

Warmflüssige Masse aus Berlinerblau (Leimmasse).

Man giesst die erwärmte, wässrige Lösung des Berlinerblau allmählich und unter fortwährendem Umrühren in dieselbe Quantität einer ebenfalls erwärmten, concentrirten Leimlösung; hergestellt wird letztere, indem man gut abgewaschene, feine Gelatinetafeln in etwa der doppelten Menge destillirten Wassers bei Zimmertemperatur etwa 1—2 Stunden lang anquellen lässt; die gequollene Leimmasse wird dann durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade flüssig gemacht und filtrirt.

Da das „lösliche Berlinerblau" der Droguisten nicht immer zuverlässig ist, so geben wir die genaue Vorschrift von Thiersch zur Selbstbereitung der Substanz.

Man bereite sich

a) eine kalt gesättigte Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul;
b) eine kalt gesättigte Lösung von rothem Blutlaugensalz;
c) eine gesättigte Lösung von Oxalsäure;
d) eine warme Lösung von feinem Leim 2 : 1.

Etwa 10—15 gr Leim werden mit 4—6 ccm der schwefelsauren Eisenoxydullösung (a) in einer Porcellanschale (Schale 1) vermischt.

In einer zweiten Schale werden 20—30 gr Leim (Lösung d) mit 8—10 ccm der Lösung des rothen Blutlaugensalzes (b) vermischt und noch 8 ccm der Oxalsäurelösung (c) zugefügt.

Ist die Masse in beiden Schalen auf ca. 25—32° abgekühlt, so fügt man tropfenweise und unter beständigem Rühren den Inhalt der ersten Schale dem Gemisch der zweiten zu. Nach vollständiger Fällung erhitzt man unter Umrühren eine Zeit lang die gebildete tiefblaue Masse auf 70—100° C. und filtrirt schliesslich in einem Heisswassertrichter durch Flanell.

Die mit Berlinerblau angefertigten Injektionen verlieren im Laufe der Jahre allmählich die blaue Farbe durch Reduktion; durch einen Ozonträger, z. B. Terpentinöl, wird sie wieder hervorgerufen.

Undurchsichtige Leimmassen werden aus Zinnober, Chromblei, Ultramarin, Russ hergestellt.

---

[1]) Verschiedene Leiminjektionsmassen sind von Dr. Georg Grübler, chem. Laboratorium, Leipzig, zu beziehen.

Warmflüssige Karmininjektion, Karminleim.

Diese Injektionsmasse ist dauerhaft; hier liegt aber die Schwierigkeit vor, dass die rothe Farbe bei Anwendung von ammoniakaliseher Karminlösung sofort transsudirt: die Lösung muss daher neutralisirt werden und zwar mit grosser Vorsicht, da die Masse sonst opak und durch die groben Karminniederschläge vollkommen unbrauchbar wird.

Man halte sich eine Ammoniaklösung und eine solche der Essigsäure, von welchen man die zur Neutralisation erforderlichen Tropfenzahlen vorher bestimmt hat. Etwa 2—2,5 gr feinstes Karmin werden mit einer abgezählten Tropfenmenge der Ammoniaklösung, welche man nach Belieben grösser oder kleiner nehmen kann, und etwa 15 ccm destillirtes Wasser in einer Schale unter Reiben gelöst und filtrirt, wozu einige Stunden erforderlich sind. Durch Verflüchtigung erfolgt bei diesem Verfahren ein Ammoniakverlust.

In eine filtrirte, mässig erwärmte, concentrirte Lösung feinen Leims wird die ammoniakalische Karminlösung unter Umrühren eingetragen, etwas auf dem Wasserbade erwärmt, und darauf die zur Neutralisation der ursprünglich benutzten Ammoniaklösung erforderliche Tropfenzahl der Essigsäure langsam und unter Umrühren hinzugegeben.

Bei Injektion von Organen, die stärker alkalisch reagiren, kann der Masse noch eine kleine Menge Essigsäure zugesetzt werden. Die Erwärmung während der Injektion darf nicht über 45° C. steigen.

Der Karminleim nach Hoyer wird hergestellt, indem man eine neutrale Karminlösung (s. Färbetechnik) zu einer concentrirten Leimlösung fügt, bis diese hellroth erscheint. Darauf giebt man 5—10 Vol.-Proc. Glycerin und 2 Gewichtstheile Proc. conc. Chlorallösung zu.

b) Injektionsapparat.

Die Injektionsspritze muss gut schliessen; nach dem Gebrauch wird sie sehr sorgfältig gereinigt; die Spritze wird entweder direkt oder durch einen Kautschukschlauch oder ein Zwischenstück mit der Canüle verbunden. Spritze und Canülen sind von Metall oder von Glas. Der Stempel der Spritze muss nicht gar zu stramm sitzen und ohne jeden Ruck ganz gleichmässig vorgeschoben werden können. Die Injektion erfolgt langsam und unter schwachem Druck.

Etwas complicirter, indessen sehr empfehlenswerth ist es, die Injektion unter constantem Druck vorzunehmen. Wenn man zu diesem Zwecke nicht den Hering'schen Apparat zur Verfügung hat, so kann man sich leicht mittelst einiger Flaschen und Kautschukschläuche den nöthigen Apparat zusammenstellen. Ein solcher Apparat ist von R. Jung in Heidelberg zu beziehen.

In einem Gefäss, welches als sogenannter Windkessel fungirt, siehe Fig. 27 *D* Druckflasche, wird die Luft durch Wasser oder Quecksilber,

welche aus einem Gefäss (*Q*) oder der Wasserleitung zufliessen, comprimirt, und treibt die Injektionsmasse aus einem dritten mit der Druckflasche durch Schlauch und Glasröhren verbundenen Gefässe *J* aus. Für die Injektion unter Quecksilberdruck braucht man 3 Flaschen von $^1/_4$ bis $^1/_2$ Liter Inhalt: 2 Druckflaschen und eine kleinere Injektionsflasche. Die beiden ersteren besitzen eine obere und eine untere Oeffnung, letztere in einem dicht über dem Boden angebrachten kurzen Rohr befindlich. Die unteren Oeffnungen der beiden Flaschen werden mit einander durch einen Kautschukschlauch verbunden, welcher gut durch Schnur oder Draht befestigt wird. Die obere Oeffnung der einen (Quecksilberflasche *Q*) bleibt offen und wird nur durch Watte leicht geschlossen, während die obere Oeffnung der zweiten Druckflasche *D* durch einen einmal durchbohrten,

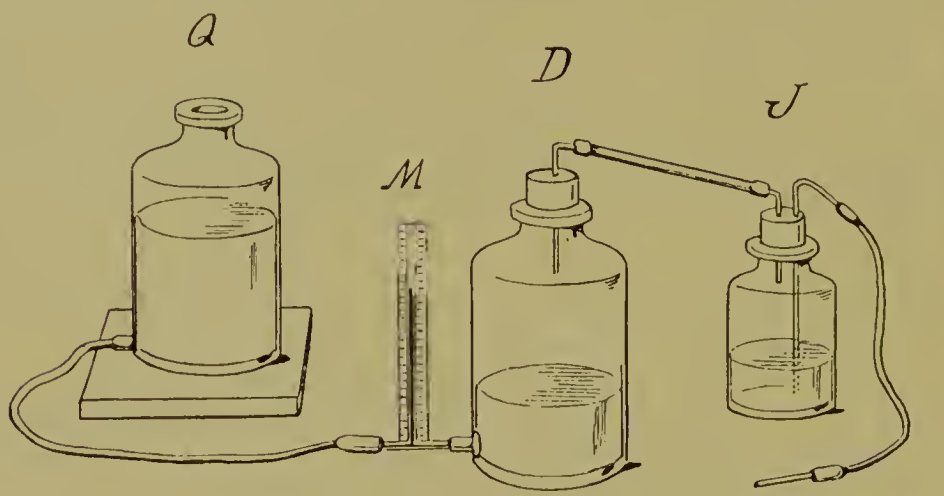

Fig. 27.

gut befestigten Pfropfen (bei Doppelinjektionen ist der Kork zweimal perforirt) verschlossen wird.

Die dritte Injektionsflasche, welche nur oben eine Oeffnung besitzt, der ein doppelt durchbohrter Pfropfen fest eingefügt ist, wird mit der leeren Druckflasche durch einen Kautschukschlauch, der an jedem Ende ein kurzes rechtwinklig gebogenes Glasrohr besitzt, welches in den Stopfen e ingefügt wird, verbunden. Durch die zweite Oeffnung des Stopfens der Injektionsflasche wird ein spitzwinklig gebogenes Glasrohr bis auf den Boden geführt und dessen freies Ende mit der Injektionscanüle verbunden.

Man füllt zuerst die Injektionsflasche und zwar durch Ansaugen[1]) der Injektionsflüssigkeit, indem man aus der Quecksilberflasche Quecksilber in die Druckflasche fliessen lässt. Die Luft entweicht durch den Canülenschlauch der Injektionsflasche. Man taucht nun diesen in die Injektions-

[1]) Um die Dichtungen zu schonen.

flüssigkeit; durch Tieferstellen der Quecksilberflasche fliesst das Quecksilber aus der Druckflasche in die erstere zurück, und die Injektionsmasse wird eingesogen. Man hebt die Quecksilberflasche, bis das Quecksilber in beiden gleichsteht, setzt die Canüle ein, schliesst durch Klemmen die Schläuche, hebt die Quecksilberflasche aufs Neue, öffnet die Schläuche und injicirt. Um den gewünschten Druck zu erreichen, muss die Quecksilberflasche immer mehr gehoben werden.

Die in das Blut-Gefäss eingebundene Canüle wird mit Injektionsmasse oder auch, zur Vermeidung von Verunreinigung des Präparats, mit destillirtem Wasser gefüllt und, ohne dass eine Luftblase dazwischen tritt, mit der Spritze resp. dem Injektionsapparat verbunden; dann kann die Injektion beginnen. Auch weiterhin darf der Strom der Injektionsflüssigkeit nirgends durch Luftblasen unterbrochen werden; bei sorgfältiger Ausführung der Vorbereitungen sind die Luftblasen sicher zu vermeiden.

Ist die Injektion dann im Gange, so kommt es leicht zum Austritt der Masse aus Seitenästen oder Collateralen; besonders, wenn es sich um Organe oder Organtheile handelt, die bei der Sektion gewonnen worden sind, ohne dass vorher die Injektion in Aussicht genommen war; die Lumina müssen dann unterbunden oder zugeklemmt werden. Die Venenlumina bleiben am besten zu Anfang offen, damit sich eventuell das Blut entleeren kann; vor der Beendigung der Injektion kann man dieselben dann ebenfalls unterbinden. Bei passender Auswahl der Arterienäste wird man auch an einer bereits durchschnittenen Niere, Lunge, Leber etc. meist noch erfolgreiche Injektionen, allerdings nur auf Abschnitte des Organs beschränkt, ausführen können, indem man einen biegsamen Catheter so weit als möglich in ein Gefäss einführt und die Canüle mit ihm verbindet.

Man beendet die Injektion, wenn die Färbung des Organs genügend intensiv geworden ist; auch die vermehrte Consistenz giebt einen Fingerzeig dafür ab, dass man aufhöre. Nach der Injektion kommen die Präparate sofort in Alkohol.

Mit Extravasaten hat man bei Injektion pathologisch veränderter Organe oft genug zu kämpfen; durch Vermeidung eines zu hohen Injektionsdruckes wird man dieselben, wenigstens in vielen Fällen, beschränken können.

Für viele Injektionen von Lymphgefässen und Saftcanälen (Cornea) benutzt man feine Stichcanülen (die sogenannten Einstich-Injektionen), die vorsichtig an die betreffende Stelle des Organs vorgeschoben werden; bei der Injektion entsteht dann nothwendig ein „Extravasat“, in der Umgebung desselben aber erhält man oft genug die schönste Füllung der Lymphgefässe und Saftcanälchen. Zur Injektion dient kaltflüssiges Berlinerblau oder Oel, welches nachher mit Goldchlorid oder Osmiumsäure behandelt und dadurch blau resp. braun gefärbt wird.

Die physiologische Injektion.

Cochenillekarmin und Indigkarmin (indigoschwefelsaures Natron.[1]) Ehrlich's Methylenblauinjektion.

Für Darstellung der Nieren- und Lebercanäle, sowie Lymphgefässe. Die Ausscheidung in die Canallumina besorgen hier die Drüsenzellen.

Injektion von kalt gesättigter wässriger Lösung (indigoschwefelsauren Natrons) in den Lymphsack eines Frosches, oder Einlegen eines erbsengrossen Stückes des genannten Salzes in den Lymphsack des Oberschenkels und Umschnüren desselben, um Ausfliessen der Lymphe zu verhüten, liefert nach 24 Stunden gute Füllung der Gallengänge.

Wird der Farbstoff in die Vena abdom. des Frosches injicirt, finden sich nach einiger Zeit die Kittleisten des Epithels blau gefärbt. Arnold und Thoma, Virchows Archiv Bd. 64.

Bei Säugethieren injicirt man in die Vene so lange, bis die Conjunctiva merklich blau erscheint. Für ein Kaninchen reichen 25—50 ccm der Lösung aus. Nachdem einige Zeit blauer Harn secernirt wurde, wird das Thier durch Verbluten getödtet.

Um eine p. mortem leicht eintretende Diffusion des indigoschwefelsauren Natrons zu verhüten, wird in die Nierengefässe eine kaltgesättigte Lösung von Chlorkalium eingespritzt. Härtung in absol. Alkohol, in dem nur ein kleiner Theil des Farbstoffs sich löst, Untersuchung in Glycerin, das mit Chlorkalium gesättigt ist, oder in Balsam.

Zur Darstellung der feinen Nervenausbreitungen und der Spiralfasern der sympathischen Ganglien injicirt Ehrlich bei Säugern in die Venen, beim Frosch in Venen oder Lymphräume 1 gr rektificirtes Methylenblau in 300—400 ccm 0,5procentiger physiologischer Kochsalzlösung. Untersuchung nach circa 2—3 Stunden. Die injicirten Partien werden einige Minuten bis mehrere Stunden der Luft ausgesetzt, wodurch die Farbe intensiver wird. Die Farbe ist jedoch nicht haltbar. Zur Fixirung dient eine vor dem Gebrauch filtrirte kalt gesättigte wässrige Lösung von pikrinsaurem Ammoniak, die eventuell zur Markscheidenfärbung mit 1—2 ccm 1procentiger Osmiumsäure auf 100 ccm versetzt ist. Für Schnitte wird das blau gefärbte Präparat in einer kalt gesättigten alkoholischen Lösung von pikrinsaurem Ammoniak 20 Minuten bis 12 Stunden oder durch Gefrieren gehärtet. Befeuchtung des Messers mit pikrinsaurem Ammoniak, Einschluss in verdünntem Glycerin mit einer Spur von pikrinsaurem Ammoniak.

(Siehe auch Nervensystem.)

In der Fixirflüssigkeit ändert sich die blaue Farbe in Röthlichbraun, Blauschwarz, Blaugrün.

[1]) Chrzonszczewski, Virchow's Archiv XXX, pag. 187, XXXV, pag. 158. 153 pag. 110.

Auch stärkere Methylenblaulösung bis zu 4% kann zur Injektion gebraucht werden, selbst dem eben getödteten Thiere entnommene Organe kann man in eine stärkere oder schwächere Methylenblaulösung ($^1/_{10}$%) legen. Die Organe färben sich im Moment des Absterbens.

Die in Farblösung gebrachten Organe werden nach 2 Minuten bis 2 Stunden in $^1/_2$procentiger Kochsalzlösung abgewaschen und auf 24 Stunden in die Fixirungsflüssigkeit gebracht. Hierauf werden sie in einem ammoniumpikrathaltigen Glycerin zerzupft oder in Hollundermark geschnitten oder ausgebreitet und in Glycerin mit Ammoniumpikrat aufgehoben.

---

7. Kapitel.

Einklemmen, Aufkleben, Umranden, Umgiessen, Durchtränken, Einbetten.

Einklemmen. Um beim Schneiden mit dem Mikrotom das Objekt vor Druck durch die Klemme zu schützen, bringt man es zwischen zwei Leberstückchen, welche einigermaassen seiner Form angepasst sind (Klemmleber). Sehr geeignet ist die Amyloidleber, aber auch die des Schweines, Hammels oder Hundes reicht aus.[1])

Getrocknetes Hollundermark oder noch besser Sonnenblumenmark ist etwas härter als Leber und wird in der gleichen Weise benutzt.

Aufkleben. Reinlicher ist das Schneiden aufgeklebter Präparate. Man befestigt diese, nachdem durch kurzen Aufenthalt in Wasser der Alkohol zum Theil entfernt wurde, mit etwas Glycerinleim oder Gummi arabic. und Glycerin auf einem Blöckchen (aus Pappelholz oder Stabilit). In Alkohol wird der Gummi nach $^1/_4$—2 Stunden hart.[2])

In Celloidin eingebettete Präparate werden durch Celloidin auf der Unterlage befestigt, Paraffinpräparate mit Paraffin angeschmolzen.

Umranden, Umgiessen, Einbetten. Bei grösseren Objekten ist die einfache Einklemmung wegen der ungleichen Oberfläche oft schwierig

---

[1]) Die Leberstücke werden in Wasser ausgewaschen, in Alkohol oder in Müller'scher Flüssigkeit und darauf in Alkohol gehärtet.

[2]) Die Aufklebungsmasse, deren ich mich ausserdem bediene, besteht aus:

Gelatine . . . 1 Theil,
Wasser . . . . 2 Theile,
Glycerin . . . 4 Theile.

Die Masse wird gekocht und durch ein grobes Filter geschickt. Der zum Aufkleben dienende Block kommt auf 5 Minuten in Alkohol absol. Das aus Alkohol entnommene Präparat und den Block lässt man an den zu verklebenden Flächen etwas verdunsten, trägt die (im Wasserbad verflüssigte) Aufklebemasse auf den Block in dünner Schicht, drückt das Präparat etwas in die Masse und lässt es etwa 5 Minuten an der Luft stehen. Trocknet das Präparat rasch, so legt man es nach 2—3 Minuten in Alkohol absol. Nach einer halben Stunde ist der Leim fest und das Präparat schnittfertig.

(Rückenmark, Gehirn). Wir umgiessen dann das in Kali bichromic. oder Müller'scher Flüssigkeit conservirte Objekt, nachdem es leicht erwärmt wurde, mit einer erstarrenden Masse.

Man tropft etwas Paraffin oder Walrath, welches man auf einem Spatel oder Messer verflüssigt hat, auf das zu schneidende Objekt, bis dieses ganz von dem Fett umhüllt ist. Nach dem Erstarren des Fettes wird das Präparat entweder mit Paraffin auf einem Holzklötzchen oder dem Metallcylinder des Mikrotoms angeschmolzen oder in der Präparaten-Klammer des Mikrotoms fixirt.

Die umhüllende Fettschicht muss dünn sein und darf weder zu kalt noch zu heiss aufgetragen werden, da sie sonst leicht abspringt. Hierzu dienen Mischungen von Oel und Wachs, Walrath, Paraffin, Stearin, Talg, Schmalz. Die Mischung wird je nach der Härte des Präparates hergestellt. Die erwärmte, flüssige Masse wird in den Cylinder des Mikrotoms gegossen, das gut erhärtete, abgetrocknete Präparat darin versenkt. Nachdem die Masse erstarrt ist, entfernt man um das Präparat die Einbettungsmasse zum Theil, um nicht zu viel mitzuschneiden und schneidet unter Wasser oder mit feuchtem Messer (Oel). Dieses ist nach jedem Schnitt zu reinigen. Man nimmt z. B. eine Mischung von:

Wachs und Oel zu gleichen Theilen,

oder:

Walrath . . . . . 2 Theile,
Ol. Bergamott. . . . . 1 Theil,
Wachs, Oel, Spermacet zu gleichen Theilen,

oder:

Paraffin . . . . . 5 Theile,
Walrath . . . . . 2 „
Schmalz . . . . . 1 Theil,

oder:

Spermacet . . . . . 4 Theile,
Ricinusöl . . . . . 1 Theil,
Talg . . . . . 3—4 Theile,

oder:

Stearin . . . . . 15 Theile,
Schweinefett . . . . . 12 „
Wachs. . . . . 1 Theil,
(Gudden's Einbettungsmasse).

Sollte der Block der Einbettungsmasse in dem Metallcylinder nach dem Erkalten sich lockern, so überzieht man die Innenfläche des letzteren mit einer Mischung aus Wachs und Terpentin, erwärmt und schiebt den Block dann ein.

Nachbehandlung. Die Schnitte werden gefärbt, in Alkohol entwässert, in Oel und dann in Balsam übertragen.

Durchtränkung und Einbettung. Sie dient dazu, Präparaten von ungleicher Härte, insbesondere solchen, welche Lücken enthalten, oder aus denen Theile beim Schneiden herausfallen würden, eine gleichmässige Consistenz zu geben, wodurch nicht nur die Theile beim Schneiden in ihrer richtigen Lage erhalten werden, sondern auch die Schnittführung erleichtert wird. Das Präparat wird entweder nur mit der später erstarrenden Masse durchtränkt und mit der letzteren auf einer Unterlage befestigt oder eingeklemmt, oder das durchtränkte Präparat wird zur leichteren Behandlung und Befestigung auf dem Mikrotom mit einer grösseren Menge der Durchtränkungsmasse umgeben, in diese eingebettet.

Für kleinere Präparate reicht die Durchtränkung oft schon aus, grössere müssen eingebettet werden.

Wir benützen dazu Massen, die beim Erkalten fest werden (Fette) — Durchschmelzung — oder solche, die in Alkohol (Leim, Gummi, Eiweiss) oder andere, welche durch Verdunstung (Seife) oder in dünnerem Alkohol allmählich erhärten (Celloidin).

Die bisher gebräuchlichen Einbettungs- und Durchtränkungsverfahren leiden, so gute Dienste sie in einzelnen Fällen leisten können, doch an gewissen Mängeln.

Diese bestehen darin, dass manche der zu dem Verfahren dienenden Massen bei der Nachbehandlung wieder entfernt werden müssen, wodurch Theile verloren gehen können. Manche Massen sind auch nicht durchsichtig genug, um uns leicht über die Lage des Objekts zu orientiren. Wir sind dann genöthigt, durch Marken dessen Lage anzugeben oder dasselbe in bestimmter Lage zu erhalten, was wir dadurch erreichen, dass wir es mit der Nadel fixiren.

Die Einbettungsarten, welche in den letzten Jahren sich am meisten eingebürgert haben, sind die in Celloidin und Photoxylin und in Paraffin und Fettmassen. Wir wollen jedoch der Vollständigkeit halber auch die übrigen Einbettungen kurz erwähnen.

Durchtränkung mit Gummi, Leim, Eiweiss, Seife.

Bei der Durchtränkung gehärteter Präparate[1]) mit Gummi arabicum oder Gummi arabicum mit Glycerin zu gleichen Theilen und nach 24 Stunden Uebertragen in Alkohol ist es nicht ganz leicht, die richtige Consistenz des Gummi zu treffen. Er wird leicht zu hart und schädigt das Messer. Beim Entwässern schrumpfen auch die Schnitte.

Die Einbettung in Glycerinleim oder in eine Mischung von Hausenblase und Glycerin hat den Nachtheil, dass beim Ausziehen des Leimes mit warmem Wasser Theile ausfallen.

[1]) Bloehmann, Ueber Einbettungsmethoden. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. I. 1884.

Das als Einbettungsmasse gebrauchte Eiweiss färbt sich bei der Nachfärbung mit, ist nicht mehr zu entfernen und stört durch sein körniges Aussehen.

Die Einbettung in Transparentseife hat wohl den Vorzug der Transparenz, aber den gleichen Uebelstand wie die Leimeinbettung.

Durchtränkung mit Celloidin oder Collodium.

Das Verfahren, von Duval erfunden und von Schiefferdecker vervollkommnet, hat den grossen Vorzug, dass die Masse hinreichend gut erhärtet, um ziemlich dünne Schnitte zu gewinnen, dass sie durchsichtig genug bleibt, um sich einigermaassen über die Lage des Objektes noch orientiren zu können und dass sie die meisten Farben beim Auswaschen wieder abgiebt und darum aus den Schnitten nicht immer entfernt zu werden braucht.

Celloidinlösungen. Das käufliche Celloidin, welches meist nicht hinreichend trocken, darum undurchsichtig und von weisslicher Farbe ist, wird in ganz kleine Stücke zerschnitten, die man, vor Staub durch Bedecken mit einem Blatt Filtrirpapier geschützt, trocknen lässt.

Sind sie ausgetrocknet, was man an ihrer grösseren Härte, bräunlichen Farbe und Durchsichtigkeit erkennt, werden sie gelöst.[1])

In einer Mischung von Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen löst sich das Celloidin unter öfterem Schütteln in mehreren Wochen. Die Lösung soll klar sein und etwa die Consistenz von Syrup haben (Stammlösung, Lösung I).

Durch weitere Verdünnung dieser Stammlösung mit Mischungen von Alkohol und Aether zu gleichen Theilen werden zwei weitere Verdünnungen hergestellt und zwar:

2. (Lösung II.) Durch Verdünnung der Stammlösung auf das doppelte Volumen.

3. (Lösung III.) Durch Verdünnen der Lösung II. auf das doppelte Volumen.

In den meisten Fällen genügen zwei Lösungen, eine dünne (wasserflüssig) und eine stärkere (von Syrupconsistenz).

Celloidineinbettung. Das Präparat kommt aus Alkohol absol., um es ganz zu entwässern, in ein Gemisch von Alkohol und Aether zu gleichen Theilen auf einige Tage oder auf 24 Stunden in Aether. Aus dem Aether bezw. Alkoholäthergemisch wird das Präparat auf 6—8 Tage und mehr in die dritte ganz dünne Lösung, aus dieser ebenso lange in die zweite von Glycerinconsistenz und aus dieser halb so lange in die erste Lösung übertragen, bis es vollkommen durchtränkt ist. Bei Benutzung von zwei

[1]) Man benutzt ein Glas mit Korkverschluss, Gläser mit eingeriebenem Stöpsel eignen sich weniger, da sie bei ungenügendem Verschluss die Celloidinlösung theilweise verdunsten lassen und bei Verklebung des Pfropfens mit der Flasche schwer zu öffnen sind.

Lösungen kommt das Objekt erst in die dünne und dann in die concentrirte Celloidinlösung. Sind Hohlräume in dem Präparat, so werden diese eröffnet, damit das Celloidin eindringen kann.

Kann man annehmen, dass die gewünschte Durchtränkung des Präparats eingetreten, wird dasselbe gehärtet. Man lässt entweder langsam die Celloidinlösung abdunsten, indem man unter den Deckel des Gefässes, welches das Celloidinpräparat enthält, etwas Papier schiebt. Sobald die Lösung mehr gallertig hart ist, löst man, indem man mit dem Messer innen am Glase entlang geht, die Celloidinmasse etwas ab, damit die Gase aus den tieferen Partien entweichen können; so vermeidet man die Entstehung von Blasen. Sind solche dennoch aufgetreten, schneidet man sie auf und giesst neue Lösung hinein, um sie auszufüllen.

Man kann auch die ganze Glasschale, oder wenn man die Einbettung in einem Papierkästchen vorgenommen hat, dieses in 70—80procentigen Alkohol legen, indem man es, um es zum Sinken zu bringen, mit einer Glasplatte beschwert.

Ist die Lösung endlich soweit eingedickt, dass man mit der Fingerspitze (nicht mit dem Nagel) keinen oder kaum einen Eindruck mehr machen kann, so giesst man auf die Oberfläche des Celloidins in dem Glasschälchen Alkohol[1]) von 70—85%, umschneidet nach einigen Tagen das Präparat nach Abgiessen des Alkohols und bringt den so gewonnenen Celloidinblock in ein Gefäss von 80—85procentigen Alkohol,[2]) worin er noch ein paar Tage bleibt. Nach dieser Zeit wird der Block für die weitere Behandlung zugeschnitten.

Hat der Block ungefähr die Härte des Knorpels, ist er schnittfähig. Er wird dann mit mässig dickem Celloidin auf einen Holz- oder Stabilitblöckchen oder auf Metall aufgeklebt, welche passend für die Präparatenklemmen des Mikrotoms hergerichtet sind (Klötzchen von 1 cm Seitenlänge, mit leichter Abrundung der Seitenfläche oder Kanten). Vor dem Aufkleben kommt das Holzklötzchen $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in Alkohol; nachdem es sorgfältig abgetrocknet ist, wird die zum Aufkleben bestimmte Fläche mit etwas dickem Celloidin bedeckt. Der Celloidinblock wird, um ihn etwas zu erweichen, mit seiner Kehrseite einige Sekunden in Alkohol getaucht, dann abgetrocknet, an die mit Celloidin bedeckte Fläche des Klötzchens angedrückt und nach einigen Minuten, sobald das Celloidin etwas verdunstet ist, in 70—80procentigen Alkohol (nach Rawitz in 50procentigen Alkohol) gebracht.

---

[1]) Man kann auch, ohne Alkohol aufzugiessen, die Masse vom Glase lösen oder das Präparat umschneiden, indem man der besseren Verdunstung wegen den Block öfter wendet und ihn dann in Alkohol von 80—85% bringt.

[2]) Nach Busse, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. IX, 1892, eignet sich Alkohol von 85% am besten zum Uebergiessen der Celloidineinbettungsmasse. Diese wird nicht nur durchsichtiger, sondern liefert auch die dünnsten Schnitte (15 μ). Nach Rawitz härtet 50procentiger Alkohol schneller.

In 3—4—24 Stunden sind die Celloidinblöcke in 50procentigem Alkohol fest, während sie in stärkerem Alkohol hierzu längere Zeit brauchen. Sie werden dann mit Etiquetten versehen oder mit Tinte oder Blei bezeichnet oder markirt.

Um ein Untersinken der Holzklötze in Alkohol zu bewirken, kann man sie mit Metall oder Glas beschweren.

Bei kleineren Objekten lässt sich das Verfahren noch beschleunigen, indem man die dünne Celloidinlösung durch ein unter den Deckel des Gefässes geschobenes Blatt Papier langsam abdunsten lässt und von Zeit zu Zeit etwas concentrirtere Lösung nachfüllt.

Weitere Behandlung des Celloidinpräparats.

Zu beachten ist, dass Celloidin in starkem Alkohol, besonders in absolutem, wie in manchen ätherischen Oelen, wie Nelkenöl, sich löst. Der Aufenthalt der Celloidinschnitte in Alkohol absol. darf sich nur auf einige Secunden beschränken, sofern eine Lösung des Celloidin vermieden werden soll. Von Oelen gebraucht man Ol. Origani cret., Lavendel-, Bergamott-, Sandelholz-, Cedernöl. Xylol macht die Präparate etwas schrumpfen.

Ein Nachtheil des Celloidins ist, dass es sich bei der Färbung des Präparates mitfärbt. Man gebraucht darum lieber durchgefärbtes Material. Nur bei der Weigert'schen Hämatoxylinmethode wird es bei der Differenzirung fast völlig entfärbt. Gegenüber dem Paraffin hat es den Vorzug, dass es sich auch bei voluminösen Organen brauchen lässt. Besonders findet es Anwendung beim Centralnervensystem.

Die Celloidineinbettung und die weitere Behandlung der eingebetteten Stücke besteht demnach aus folgenden Akten:

1. Härtung oder Nachhärtung in absol. Alkohol,
2. Verweilen in dünnem Celloidin 3—5 und mehr Tage,
3. Verweilen in dickflüssigem Celloidin 3—5 und mehr Tage,
4. Umschneiden des Celloidinblocks, Trocknen und Aufkleben mit Celloidin,
5. Einlegen in Spiritus von 50, 80—85% 24 Stunden und mehr,
6. Schneiden unter Alkohol,
7. Färben und Auswaschen,
8. Entwässern einige Secunden bis 1—3 Minuten in 96procentigen Alkohol,
9. Aufhellen in Bergamott-, Cedern-, Origanumöl oder Xylol,
10. Canadabalsam.

Durchtränkung mit Photoxylin.

Vor dem Celloidin hat das Photoxylin, eine Gattung Schiessbaumwolle, welche in der Photographie Verwendung findet, manche Vorzüge. Es löst sich leicht in gleichen Theilen Alkohol und Aether. Die Lösung und die erstarrte Masse sind durchsichtiger, wodurch das Orientiren er-

leichtert ist. Die Schrumpfung der Präparate ist gering, und die ganze Einbettungsprocedur kurz und einfach. Präparate von $^1/_2$ cm Durchmesser sind nach 2 Tagen schnittfertig. Die Masse wird jedoch nicht so hart, wie Celloidin, und ist darum nur für nicht zu dünne Schnitte brauchbar. Sie giebt jedoch mit schwierigen Präparaten, z. B. Placenta, noch recht dünne Schnitte.

Als Einschlussmasse verwendet man eine dünnere $^1/_2$—1procentige und eine stärkere 5procentige Lösung.

Die Präparate kommen aus starkem Alkohol erst in die dünne Lösung auf 24 Stunden und dann etwas länger in die stärkere. Mässige Wärme beschleunigt die Durchtränkung. Aus der dicken Lösung werden die Präparate auf Holz gelegt, wo sie durch die anhaftende Photoxylinschicht nach einigen Minuten ankleben. Darauf kommen sie in Alkohol von 70%, in dem sie nach 3 Stunden erhärten. Bei Harzeinschluss wird Origanumöl angewendet.

Paraffineinbettung. Das Verfahren gestattet die Anfertigung sehr dünner Schnitte von 0,001—15 Mikren und insbesondere vollständiger Serien. Für Erzielung guter Präparate ist jedoch eine sorgfältige Fixirung und Härtung und exaktes Arbeiten nöthig.

Stärkere Schnitte brechen leicht bei der weiteren Behandlung. Bei Benutzung eines Paraffins von niedrigem Schmelzpunkt. 50° C.,[1]) lassen sich sehr dünne Schnitte unter 10 Mikren kaum anfertigen. Sowohl für dünnere wie stärkere Schnitte eignet sich besser Paraffin mit höherem Schmelzpunkt, 56—58° C.

Vorbehandlung der Präparate. Die fixirten, in Alkohol absol. gehärteten resp. nachgehärteten und entwässerten Präparate kommen auf 24 Stunden in ein Lösungsmittel des Paraffins (Terpentin, Xylol, Chloroform). Letzteres dürfte vorzuziehen sein.

Dann folgt die Durchtränkung mit Paraffin. Diese wird wesentlich erleichtert, wenn man erst eine Durchtränkung mit einem Gemisch von Xylol oder Chloroform oder Terpentin mit wenig Paraffin, bei 50—55° C., vorausgehen lässt.

Man lässt nun einen Theil des Chloroforms oder Xylols im Wärmeschrank mehrere Stunden oder einen Tag verdunsten und überträgt darauf das Präparat in das im Wärmeschrank oder Wasserbad geschmolzene Paraffin je nach der Grösse der Objekte auf $^1/_2$—24 Stunden. Reste von Oel, Xylol oder Chloroform werden nun durch das Paraffin ganz verdrängt. Luftblasen im Paraffin sind dabei zu vermeiden.

---

[1]) Die Temperatur des Wärmeschranks soll stets etwas höher sein, als der Schmelzpunkt des Paraffins, damit nicht bei der ersten Abkühlung, z. B. beim Oeffnen des Wärmeschrankes, das Paraffin zum Theil erstarrt.

Bei Durchtränkung mit Chloroform (Senkungsmethode von F. E. Schulze) bringt man mit Pipette in das Glas, in welchem sich das Präparat in Alkohol befindet, so reichlich Chloroform, dass das Präparat damit bedeckt wird. Das schwerere Chloroform verdrängt in Folge von Diffusionsströmen den Alkohol, an dessen Stelle es tritt, das Präparat sinkt in Folge dessen zu Boden. Nach einigen bis 24 Stunden und mehr giesst man die beiden Flüssigkeiten ab und ersetzt sie durch reines Chloroform, worin die Präparate ein bis mehrere Tage bleiben.

Einschmelzung. Nach vollkommener Durchtränkung der Präparate mit Paraffin müssen sie noch eingeschmolzen, eingebettet werden, wozu man Papierkästchen oder Einbettungsrähmchen (2 aus Glas oder Metall bestehende Winkel) benutzt. Diese werden, mit etwas Glycerin befeuchtet, auf eine etwas erwärmte Metall- (Zinn-) oder Glasplatte gebracht. Man stellt nun die Winkel des Rähmchens, dass sie, gut aneinander gepasst, einen der Grösse des Präparats entsprechenden Raum begrenzen, giesst in den Raum Paraffin und bringt das Präparat hinein, dem man mit erwärmter Nadel die gewünschte Lage giebt.[1])

Die Unterlage mit dem im Rahmen befindlichen Präparat wird dann allmählich bis zur halben Höhe des Winkels in kaltes Wasser getaucht oder erst mit kaltem Wasser umgossen. Wenn sich an der Oberfläche des Paraffins eine Haut gebildet, dann taucht man das Ganze unter. Bei langsamer Abkühlung entstehen im Paraffin Luftblasen. Nach einer Stunde Aufenthalt in Wasser ist das Paraffin schnittfähig.

Papierkästchen schliessen besser als die Einbettungsrahmen. Sie werden mit etwas Paraffin auf einer dünnen Zinkplatte befestigt und mit dieser in Wasser abgekühlt. Nach 10 Minuten entfernt man den Block aus seiner Hülle, hält ihn einige Zeit unter Wasser, indem man ihn beschwert.

Den Paraffinblöcken werden dann die Bezeichnungen eingeritzt oder Etiquetten angeschmolzen.

Paraffin. Man wählt zwei der homogensten Paraffinsorten. Nöthigenfalls reinigt man dieselben durch Filtriren. Man stellt sich nun passende Gemische aus weicherem und härterem Paraffin her, je nach der Temperatur, bei der man schneiden will, für niedere Temperatur ein Gemisch mit einem Schmelzpunkt von 50° C., für höhere Temperatur ein Gemisch von 55°C.

Die weichere Sorte hat einen Schmelzpunkt von 45—48, die härtere von 55—60°. Ist die Masse zu hart, schneidet man in der Nähe des Ofens, einer Lampe, in der Sonne, weichere Masse macht man durch Kälte, kaltes Wasser, schnittfähiger.

Der passende Härtegrad des Paraffins ist auch durch Mischung mit anderen Substanzen, Schmalz, Petroleumöl, Vaseline. Spermacet, Wachs zu erreichen. Die beiden letzteren werden auch ohne Paraffin gebraucht.

---

[1]) Das ist überflüssig bei gleichmässig gebauten Organen.

In diesem Fall kommen die Stücke, nachdem sie in absolutem Alkohol einige Tage gelegen haben, in Ol. Bergamottae, worin sie, je nach ihrer Grösse, $^1/_2$—2 Stunden bleiben. Zur Einbettung dient eine Mischung von Ol. Ricini und Cetaceum aa. Diese Masse wird auf dem Wasserbade geschmolzen; in die flüssige, nicht zu heisse Masse kommen die Stücke $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde. Darauf werden sie in beliebiger Weise eingeschmolzen.

Die Einbettungsmasse wird unter Terpentin mitgeschnitten. Zur Entfernung derselben kommen die Schnitte in rectificirtes Terpentin, dann in absoluten Alkohol u. s. w. Die Methode empfiehlt sich für brüchige Präparate.

Ueberhitztes Paraffin (Graf Spee). Paraffin von einem mittleren Schmelzpunkt wird in einem Gefässe über freiem Feuer in einem Abzug bei nicht zu grosser Flamme gekocht, bis es eine honiggelbe Farbe angenommen hat. Je nach der Paraffinsorte schwankt die Zeit des Kochens von 6—24 Stunden. Noch besser ist es, dieses überhitzte Paraffin aus gleichen Theilen zweier Sorten herzustellen, von denen die eine einen Schmelzpunkt von 45° C., die andere einen solchen von 55° besitzt. Man erhält so ein Paraffin, welches bei 14° leicht zu schneiden ist.

Das Verfahren bei der Paraffineinbettung und der Nachbehandlung des Schnittes ist demnach folgendes:

1. Sorgfältige Fixirung. Härtung oder Nachhärtung in absol. Alkohol.
2. 24stündiger Aufenthalt der Präparate in Xylol, Chloroform oder Terpentin.
3. 1- und mehrstündiger Aufenthalt der Präparate in Xylol-, Chloroform- oder Terpentin-Paraffin im Thermostaten bei 50° C.
4. Durchtränkung mit flüssigem Paraffin bei 50° C.
5. Ausgiessen und Erstarren.
6. Schneiden.
7. Aufkleben der Schnitte auf dem Objektträger, siehe S. 93 u. f.
8. Erwärmen des Objektträgers bei 60° 10—15 Minuten.
9. Entfernung des Paraffins mit Xylol, Terpentinöl, Chloroform oder Benzin.
10. Einlegen des Objektträgers in absol. Alkohol $^1/_2$ Stunde.
11. Einlegen für kurze Zeit in 50procentigen Alkohol.
12. Aq. destill.
13. Färben, Auswaschen.
14. Entwässern, Oel und Balsam.

Bei vorgefärbten Präparaten fällt 11—13 weg und folgt nach 10. Oel u. s. w.

Kombination der Celloidin- und Paraffindurchtränkung.

Durch die Vereinigung der beiden Verfahren suchte man die Nachtheile jeder dieser Einzelmethoden zu vermeiden und die Vorzüge derselben gewissermaassen zu vereinigen. Man kann auf diese Weise nicht nur grosse, sondern auch dünne Schnitte gewinnen.

Celloidindurchtränkung mit nachfolgender Paraffinisirung. Für dieses Verfahren bedarf man

a) einer Mischung gleicher Theile Alkohol und Aether, Alkoholäther;
b) einer gesättigten Lösung von Celloidin in Alkoholäther, Stammlösung.

Aus der Stammlösung werden für die Einbettung drei verschiedene Lösungen hergestellt.

1. Stammlösung mit 2 Theilen Alkoholäther.
2. Lösung aus 1 Theil der Lösung 1 mit 2 Theilen Alkoholäther.
3. Lösung aus 1 Theil der Lösung 2 mit 2 Theilen Alkoholäther.

Das weitere Verfahren ist folgendes:

1. Conserviren des Objekts 24 Stunden in Alkohol absol.
2. Uebertragen des Objekts auf einige Stunden in Alkoholäther.
3. Successive Uebertragung in Lösung 3, 2 und 1.
4. Einlegen in Lösung 1 24 Stunden offen.
5. Uebertragen der ausgeschnittenen Celloidinplatten auf 24 Stunden in 70procentigen Alkohol.
6. Uebertragen derselben in 90procentigen Alkohol 12 Stunden.
7. Uebertragen in ein Gemisch von Origanumöl und $^1/_3$ Volum 90procentigen Alkohol.
8. Uebertragen für einige Stunden in Ol. Origani.
9. Uebertragen in Ol. Origani und $^1/_3$ Volum Xylol.
10. Uebertragen in reines Xylol.
11. Uebertragen in Xylolparaffin im Thermostaten.
12. Uebertragen in reines Paraffin.

Für dünne Schnitte wird die Schnittfläche vor jedem Schnitt mit einer dünnen Collodiumschicht überzogen und erst geschnitten, wenn diese erstarrt ist.

Paraffinisirung mit nachfolgender Celloidindurchtränkung. Auch in umgekehrter Weise lässt sich die Paraffinisirung mit der Celloidinbehandlung combiniren, d. h. der Paraffinschnitt in einen Celloidinschnitt verwandeln. Siehe Serienschnitte von Paraffinpräparaten.

8. Kapitel.

Schneiden, Mikrotome.

Schneiden.

Der pathologische Anatom kommt häufig in die Lage, sofort eine mikroskopische Diagnose stellen zu müssen. Er kann nicht erst warten, bis durch Gefrieren und Conserviren das Präparat für das Schneiden mit dem Mikrotom hinreichend zubereitet ist. Er bedarf darum neben dem

Mikrotommesser auch noch andere Schneideinstrumente: ein Rasirmesser, ein Scalpell, feine Scheeren, Doppelmesser. Letzteres kommt bei sehr weichen, frischen Organen in Anwendung.

Fig. 28. Spatel zum Auffangen und Uebertragen der Präparate.

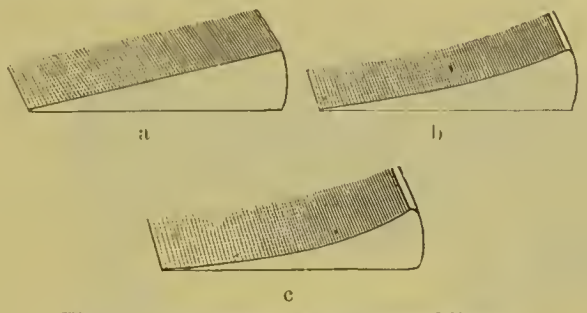

Fig. 29. Durchschnitte für Messerklingen.
a) für harte, b) für halbweiche, c) für weiche Präparate.

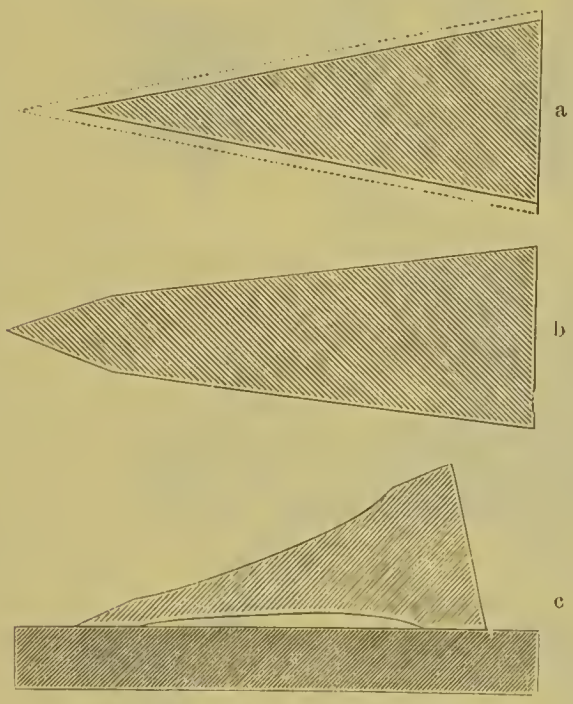

Fig. 30. Durchschnitte von Messerklingen.
a) zeigt die Abnützung des Messers beim Abziehen der ganzen Fläche, b) plane Klinge mit angeschliffenen Facetten, c) biconcave Klinge mit angeschliffenen Facetten.

Das Doppelmesser wird in raschem Zuge durch das zu schneidende Organ hindurchgeführt; damit die Schneide dabei nicht anstösst und Schaden nimmt, ist es gerathen, eine weiche Unterlage, beispielsweise eine frische Leber etc., zu benutzen. Der Gebrauch des Doppelmessers ist übrigens umständlich und nachtheilig für das (makroskopische) Präparat; die Organe werden mit dem Doppelmesser oft in sehr unschöner Weise zerhackt.

Die Scalpelle dürfen nicht, wie dies für anatomische Präparir-Uebungen ganz vortheilhaft ist, zu bauchig sein. Die Schneide muss bis nahe an die Spitze in gerader Linie verlaufen. Das Scalpell findet besondere Anwendung für kleinere und härtere Gegenstände: Verkalkungen, junge Knochen, Nägel, getrocknete Präparate.

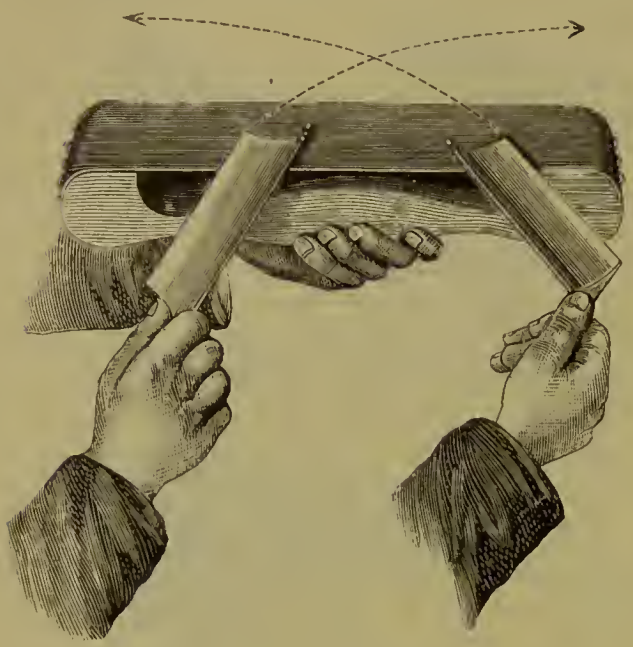

Fig. 31.
Abziehen des Messers auf dem Riemen.

Für weiche oder nicht zu harte Theile ist das Rasirmesser schon bei vielen frischen Objekten zu verwenden. Man schneidet mehr durch Zug als durch Druck und nützt dabei die ganze Länge der Schneide vom Anfang bis zu Ende aus. Für kleinere Objekte sind darum kurze Mikrotommesser mit einer Klinge von 6 cm Länge schon ausreichend, für grössere Objekte längere Messer nöthig. Letztere federn übrigens leicht und sind schwieriger zu schleifen.

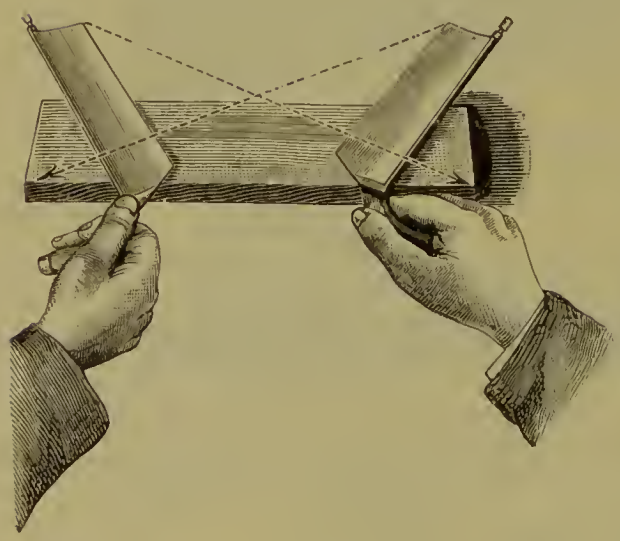

Fig. 32.
Abziehen des Messers auf dem Stein.

Man unterscheidet hohl geschliffene, halb hohle, plan concave und plane Messer. Die beiden ersteren finden nur Verwendung bei ganz weichen Gegenständen. ihre dünne Schneide würde sonst schnell stumpf werden und ausbrechen. Für gewöhnlich empfiehlt sich der Gebrauch eines Messers mit einer oberen concaven und einer unteren planen Fläche. Für harte Objekte ist ein Messer mit planen Flächen zu gebrauchen.

Um die Messer gehörig im Stande zu halten. sind gute Abziehsteine

und Abziehriemen[1]) nothwendig. Bei zu starker Abnutzung müssen jedoch die Messer von Zeit zu Zeit durch den Instrumentenmacher geschliffen werden, da hierzu besondere Vorrichtungen nöthig sind.

Beim Abziehen der Messer wird nicht die ganze Fläche abgeschliffen, sondern nur der scharfe Rand (Fig. 30b). Dadurch erhält man zwei Facetten. Damit diese unter spitzem Winkel zusammentreffen, schleift man die Messer hohl (Fig. 30c). Die hohlen Messer werden flach und nicht schräg abgezogen. Bei den Messern mit einer oder zwei planen Flächen wird, um nicht die ganze Fläche, sondern nur den der Schneide zunächst liegenden Theil abzuziehen, am Rücken des Messers ein Draht oder Stab untergelegt. Soll das Messer eine scharfe Schneide erhalten, so zieht man es auf hartem Streichriemen mit fester Unterlage und nicht auf einem nachgiebigen Riemen ab. Der Rücken des Messers geht beim Abziehen voran, die Schneide folgt. Umgekehrt ist es beim Abziehen auf dem Stein. Das Wenden des Messers geschieht beim Abziehen über den Rücken (Fig. 31 und 32).

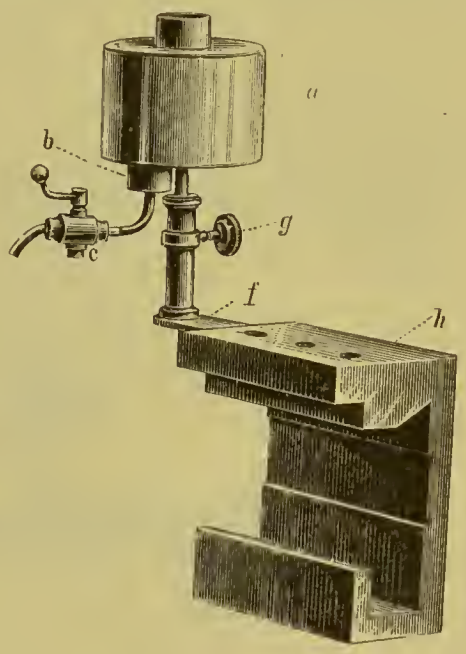

Fig. 33,1.

Tropfapparat[2]) von Bernhard. (Fig. 33, 1 ohne Messer.)

Von weichen Objekten lassen sich mit einer feinen, scharfen, über die Fläche gebogenen kleinen Scheere schon recht dünne Schnitte gewinnen. Etwas festere Objekte schneidet man am besten mit einem planconcaven oder biconcaven Rasirmesser, oder einem scharfen, nicht zu bauchigen und nicht zu dicken Scalpell, für härtere Theile gebraucht man das plane Rasirmesser oder ein Scalpell. Wo es sich um frische Objekte handelt, befeuchtet man das Messer mit einer möglichst indifferenten Flüssigkeit (physiologische Kochsalzlösung). Alkoholpräparate werden mit Alkohol von 70% befeuchtet. Derselbe dient auch zur Befeuchtung des Messers, entweder mit einem in Alkohol getauchten Pinsel, einer Spritzflasche oder einem Tropfapparat (Fig. 33, 1 und 2).

---

[1]) Steine von Escher & Comp., Sonnenberg. Streichriemen von Ad. Goldschmidt, Berlin, Landsbergerstrasse 72.

[2]) Dr. Wilh. Bernhard in Braunschweig, Kleiner Tropfapparat für Mikrotome. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikroskopische Technik. Bd. VIII, Heft 3, S. 305. 1891.

Der Apparat ist zum Preise von 12 Mk. bei Gustav Miehe, mechanische Werkstatt, Hildesheim, Prov. Hannover, Kaiserstrasse 13, zu beziehen.

Das Ausflussrohr der Spritzflasche endigt dicht über dem Messer mit einer spitz ausgezogenen Glaskugel. Das kurze Rohr ist durch Schlauch mit einem Gummiball verbunden, der durch Druck mit der Hand den Spiritus austreibt. Eine Ueberschwemmung des Präparates tritt ein, wenn die Kugel leer ist. Ein langsameres Abtropfen des Weingeists wird durch ein am Ende des langen Rohres befindliches Ventil aus Kautschuk ermöglicht, welches den Eintritt der Flüssigkeit, aber nicht deren Rücktritt gestattet. Das Ausflussrohr bleibt dann stets mit Weingeist gefüllt.

Der Tropfapparat von Bernhard (Fig. 33, 1 und 2) besteht aus einem kleinen Reservoir, welches mit dem Messer auf dem Messerschlitten des Mikrotoms festgeschraubt wird. Da der Tropfapparat dem Messer bei seinen Bewegungen folgt, wird dieses ununterbrochen feucht erhalten, ebenso wie der Schnittblock.

Mikrotome.

Von den verschiedenen Constructionen der Mikrotome können wir fast alle Systeme benutzen; die ganz einfachen lassen jedoch betreffs der

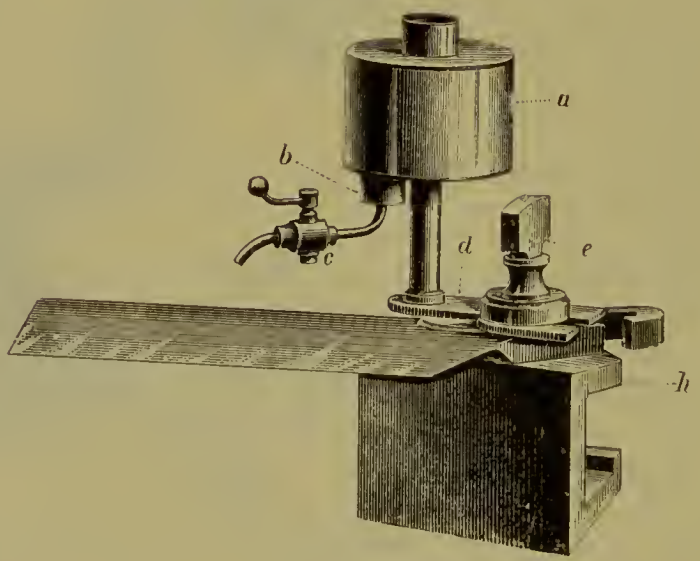

Fig. 33, 2 mit Messer.

Leistungsfähigkeit und Handlichkeit viel zu wünschen übrig. Gute Mikrotome werden angefertigt von:

Dr. Long in Breslau, Instrumentenmacher Katsch in München, Mechaniker Schanze in Leipzig, Miehe in Hildesheim, Jung in Heidelberg. Becker in Göttingen, Verick in Paris, Baltzer und Zimmermann in Leipzig

und verschiedenen Anderen. Das einfachste Mikrotom ist das

1. Cylindermikrotom von Ranvier. Es besteht aus einem Hohlcylinder von Metall, der eine scheibenförmige Platte trägt. Das Objekt

ist im Cylinder durch Kork oder Hollundermark oder durch Umgiessen mit Paraffin oder einer anderen Masse fixirt und wird für jeden Schnitt gehoben. Für das Cylindermikrotom eignen sich nur gut gehärtete Präparate. (Fig 34 und 35, S. 81 und 82.)

2. Schlittenmikrotom. Sicherer wie die obengenannten Instrumente arbeiten die Schlittenmikrotome,[1]) von denen zwei Constructionen zu unterscheiden sind:

1. Hebung des Objekts durch Verschiebung desselben auf schräg ansteigender Bahn.
2. Hebung des Objekts in senkrechter Richtung, Schraubenschlittenmikrotom.

Bei der ersten Construction befindet sich auf jeder Seite einer senkrecht stehenden Metallplatte eine Schlittenbahn. Die linke Bahn (Objektbahn) steigt gegen die rechte (Messerbahn) an. Auf jeder Bahn bewegt sich ein Schlitten, von denen der linke eine Klammer zur Aufnahme des Objekts, der rechte das mit einer Schraube festgeklemmte Messer trägt. Dadurch, dass man das Objekt auf seiner schrägen Bahn vorwärts bewegt, wird dasselbe gehoben und das Messer kann immer tiefer gelegene Theile treffen.

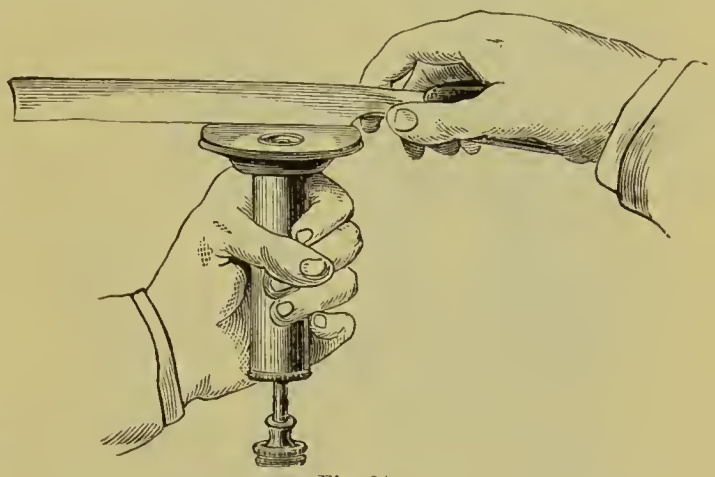

Fig. 34.
Mikrotom nach Ranvier zum Schneiden aus freier Hand.

a) Das Thoma-Jung'sche Mikrotom, dessen Objektseite nebst Tropfapparat auf beistehender Figur abgebildet ist, besitzt diese Construction.

Die schweren Schlitten gleiten bei diesem Instrument mit je 5 Elfenbein- oder Metallfüsschen auf der Bahn. Die Hebung des Präparates geschieht durch eine feine Mikrometerschraube, welche den Schlitten auf seiner Bahn vorwärts schiebt. (Fig. 36, S. 83.)

Aus der Umdrehung der Mikrometerschraube, welche an der mit ihr verbundenen Trommel abgelesen werden kann, ergiebt sich die Dicke des Schnittes. Sie beträgt für eine ganze Umdrehung 15 μ, für eine Drehung von Theilstrich zu Theilstrich der Trommel $^1/_{1000}$ mm.

[1]) Zum Einölen der aus Metall bestehenden Bahn dient eine Mischung von 4 Theilen Knochenöl und 1 Theil Petroleum.

Mit dem Objektschlitten ist eine Einschnappvorrichtung verbunden.

Das Spengel-Becker'sche Mikrotom ist nach dem gleichen Princip wie das Jung'sche Mikrotom gebaut. Die Schlitten gleiten mit 8 Elfenbeinfüsschen auf Platten von Spiegelglas, welche das Schmieren, welches bei dem vorigen Mikrotom unentbehrlich ist, überflüssig machen. Dadurch wird die Bewegung (ohne die Schichte der Schmiermasse) und insbesondere durch Bewegung des Messerschlittens mit Hülfe einer Kurbel, welche jeden ungleichen Druck auf den Sehlitten vermeidet, eine ganz gleichmässige. (Fig. 39, S. 85.)

b) Schraubenschlittenmikrotom. Ein sehr bequemes Mikrotom ist das Schraubenschlittenmikrotom von Schanze in Leipzig. Das Messer wird in einem Schlitten geführt, das Präparat durch Bewegung einer mit Kreistheilung versehenen Scheibe allmählich gehoben; durch Vorschieben des Messers wird dann eine der Hebung des Präparates entsprechende dicke Lamelle abgeschnitten. (Fig. 37 und 38, S. 84.)

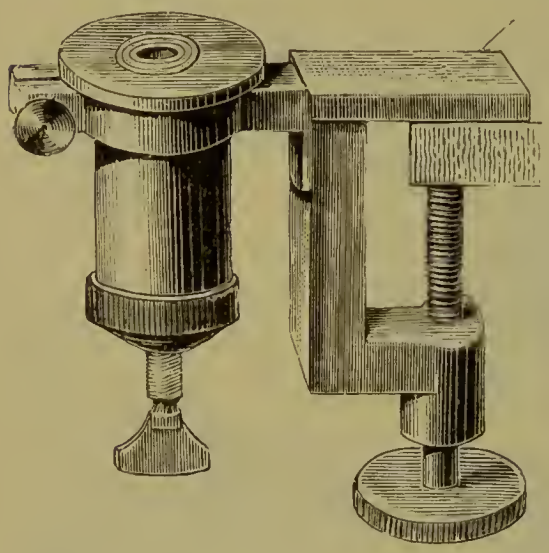

Fig. 35.
Mikrotom v. Ranvier mit Schraubenzwinge zum Anschrauben an den Tisch.

Die Bewegung des Schlittens geschieht entweder mit freier Hand oder besser durch eine Kurbel.

Das zu schneidende Präparat wird in einer Klammer fixirt; man kann zu demselben Instrument verschieden grosse und verschieden gestaltete Klammern, die leicht geweehselt werden können, benutzen. Das Präparat muss ganz fest in der Klammer sitzen.

Ein grosses Mikrotom, welches die Anfertigung möglichst grosser Schnitte durch einzelne menschliche Organe oder ganze Körperregionen bezweckt, hat nach den Angaben von O. Schulze Schanze construirt. Mit demselben können Schnitte von 5/100 mm Dicke angefertigt werden. Preis des Instruments 650 Mk.

Das Mikrotom von Schiefferdecker-Becker hat im Princip gleiche Construction wie das von Schanze. Der Schlitten gleitet mit Elfenbeinfüsschen auf Glas und kann auch durch Darmsaite mit einer Kurbel verbunden werden. Die Objektklammer ist ein Metallrahmen, der durch eine senkrechte Mikrometerschraube gehoben wird. Eine automatische Hebung der Objektklammer um eine bestimmte Höhe bei jeder Kurbeldrehung kann auch mit dem Instrument verbunden werden.

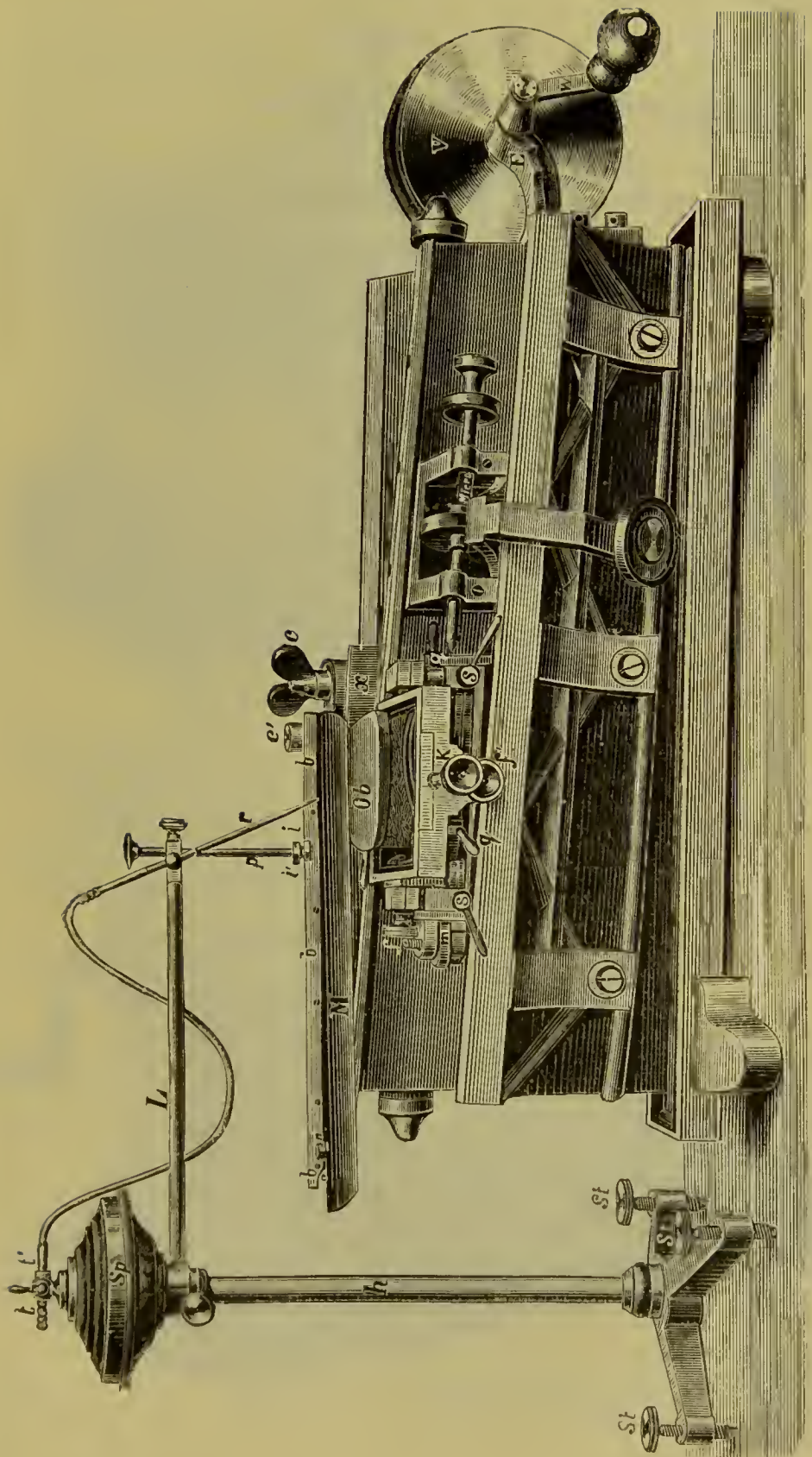

Fig. 36. Mikrotom von Jung mit Tropfapparat.

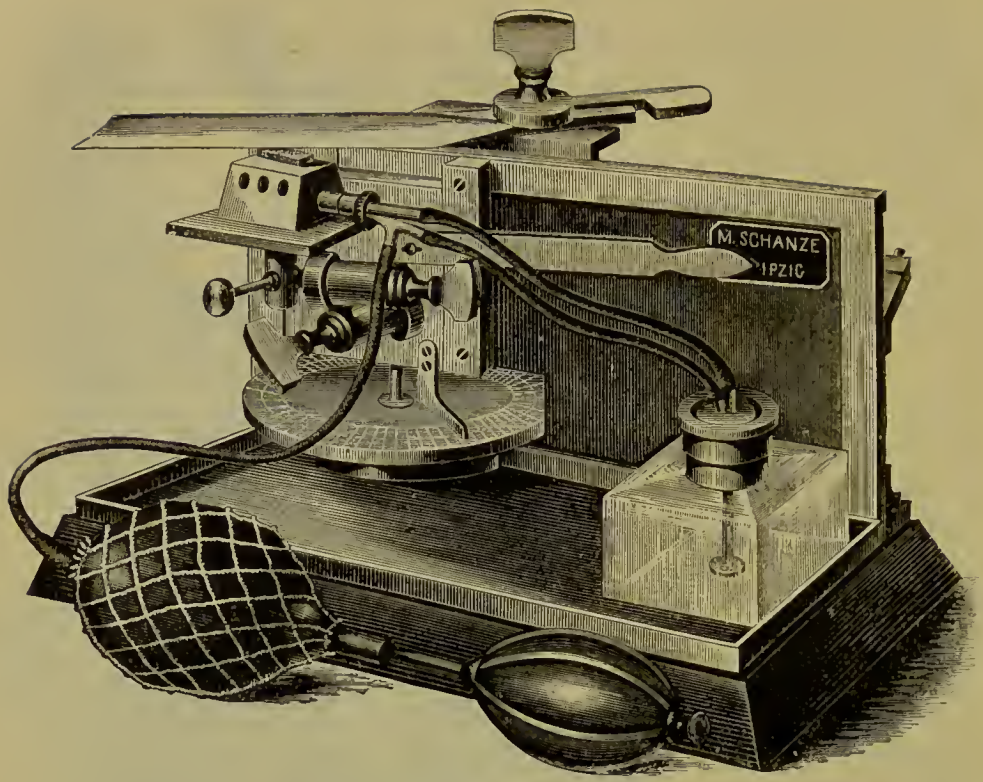

Fig. 37.
Mikrotom von Schanze, Modell A mit Gefrierapparat.

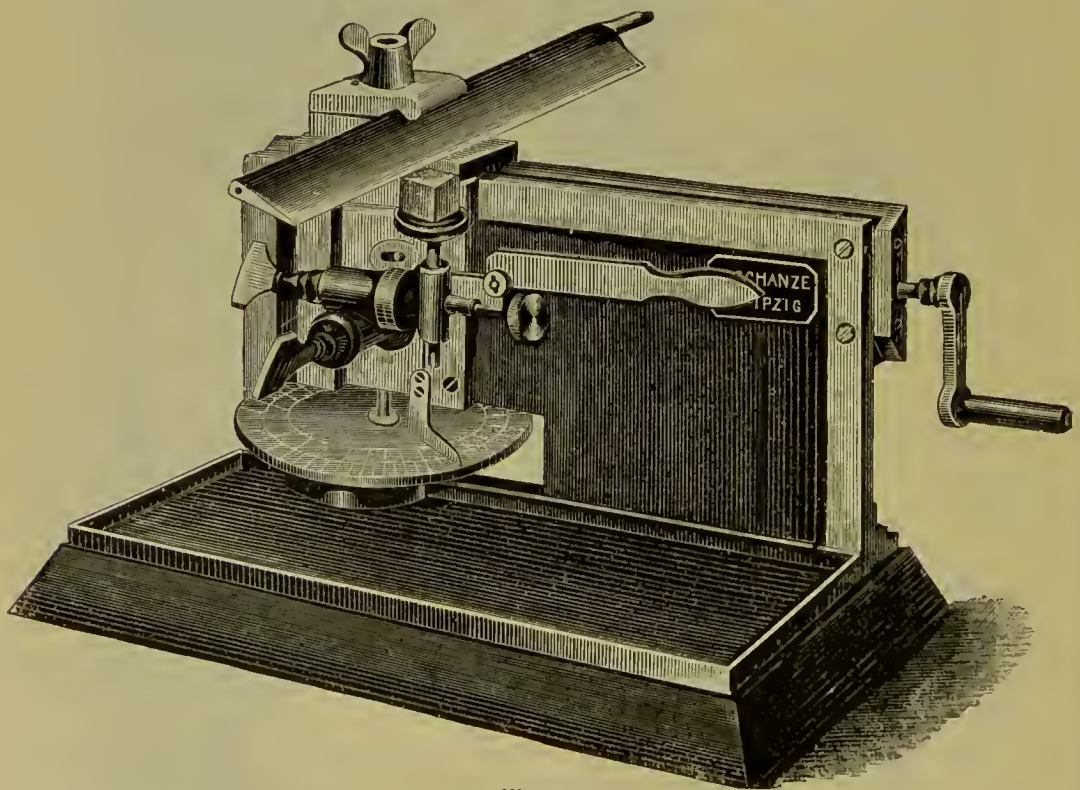

Fig. 38.
Mikrotom von Schanze, Modell B mit Kurbel

3. Tauchmikrotom. Schon beim Schneiden feuchter Präparate mit den oben beschriebenen Mikrotomen oder mit freier Hand muss das Messer, um die Reibung zu verhindern, angefeuchtet sein. Man taucht dasselbe entweder in Flüssigkeit oder benetzt es damit mit Hülfe eines Pinsels, einer Spritzflasche oder eines Tropfapparates (s. S. 80 und 83). Bei Schnitten durch grosse und zarte Objekte (Gehirn, Auge) reicht jedoch die Befeuchtung mit dem Messer nicht aus, um sie glatt abzulösen, sie falten sich oder brechen. Dies kann durch Schneiden in Flüssigkeit vermieden werden.

Zu dem Zweck construirte Gudden das Tauchmikrotom.

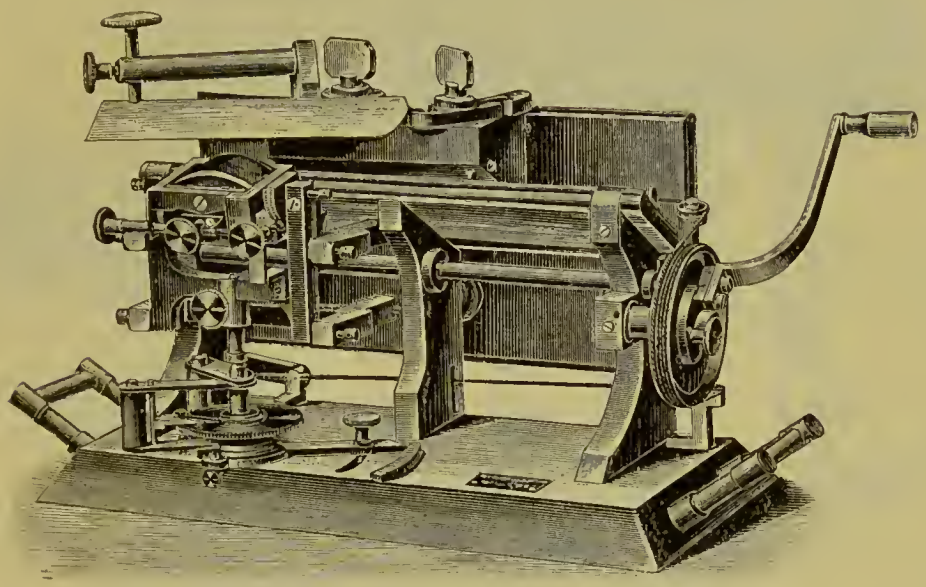

Fig. 39.
Mikrotom von Aug. Becker in Göttingen.

Bei dem verbesserten Mikrotom von Gudden wird das Messer nicht über eine glatte Scheibe geführt, sondern über einen Schlitten, der ausserhalb des mit Flüssigkeit gefüllten Beckens sich befindet. Dieses Messer ist, damit es über den Schlittenrand reicht, abgebogen. Damit wird aber seine Führung unsicher. Auch kann bei diesem Mikrotom das Präparat nicht, wie bei anderen Mikrotomen, in beliebiger Richtung fixirt werden. Das Präparat wird in einem Metallcylinder durch Umgiessen mit einem Gemisch von Wachs und Fett befestigt und durch einen Stempel gehoben (S. Fig. 40 und 41, S. 86).

Der Metallcylinder mit dem Präparat befindet sich am Boden einer Wanne, die mit Wasser gefüllt ist. Betreffs der Einbettungsmasse siehe Einbettung S. 68.

Man könnte sich, um unter Flüssigkeit zu schneiden, damit helfen, dass man eines der gebräuchlichen Mikrotome unter Wasser oder Alkohol setzt. Aber dann braucht die Reinigung des Instrumentes wieder viel Arbeit. Dies wird umgangen dadurch, dass man das Instrument zum Umklappen einrichtet und in senkrechter Richtung in einer mit Weingeist gefüllten Wanne schneidet, in welche Messer und Präparatenhalter eintauchen. Ein am Boden der Wanne befindliches Gefäss nimmt die vom Messer fallenden Schnitte auf. Solche Tauchmikrotome haben Schanze in Leipzig und Verick in Paris construirt.

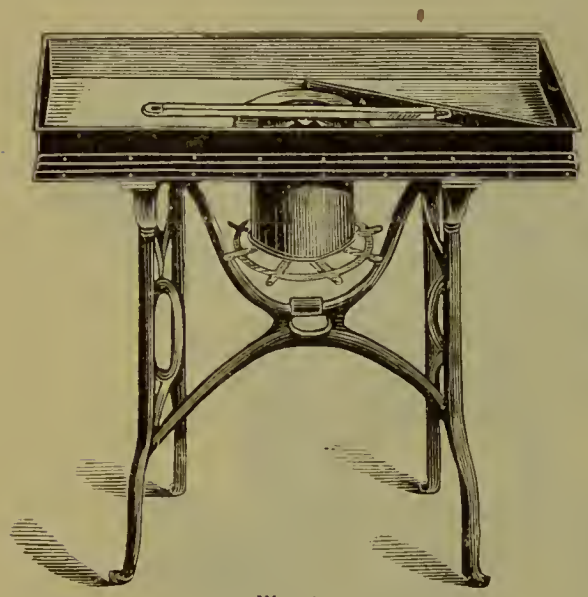

Fig. 40.
Grosses Mikrotom nach Gudden.

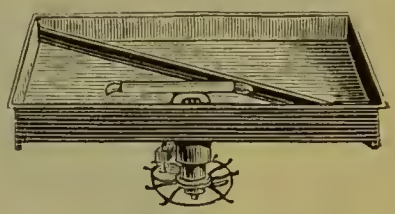

Fig. 41.
Kleines Mikrotom nach Gudden.

Bei dem Instrumente von Schiefferdecker-Becker S. 87 besteht die Tauchvorrichtung aus einer langen flachen Wanne, deren Boden von einer runden Oeffnung durchbrochen wird, an deren Rand ein weiter Gummischlauch befestigt ist. Dieser umfasst einen Behälter, in welchem die Objektklammer sich bewegt. Behälter und Wanne werden mit Alkohol gefüllt. Bei der Hebung, des ersteren faltet sich der Schlauch, und das Objekt wird über den Boden der Wanne gehoben.

Messer und Objekt befinden sich in der Tauchflüssigkeit. Ein Gestänge, welches von der Mikrometerschraube zur Kurbel führt, verschiebt durch die Bewegung dieser zugleich die Mikrometerschraube der Objektklammer und erzielt dadurch eine automatische Höheverschiebung des Objekts.

Um beim Rückgang des Messers zu verhüten, dass dieses über das Objekt streift und dessen Lage verändert, ist noch eine Vorrichtung zur Hebung des Messerschlittens angebracht.

4. Schnittaufklebe-Mikrotom von Strasser.[1]) Sowohl das Rollen der Schnitte, wie das Zerreissen der Schnittbänder wird durch den von Prof. Strasser in Bern construirten Schneideapparat vermieden, welcher

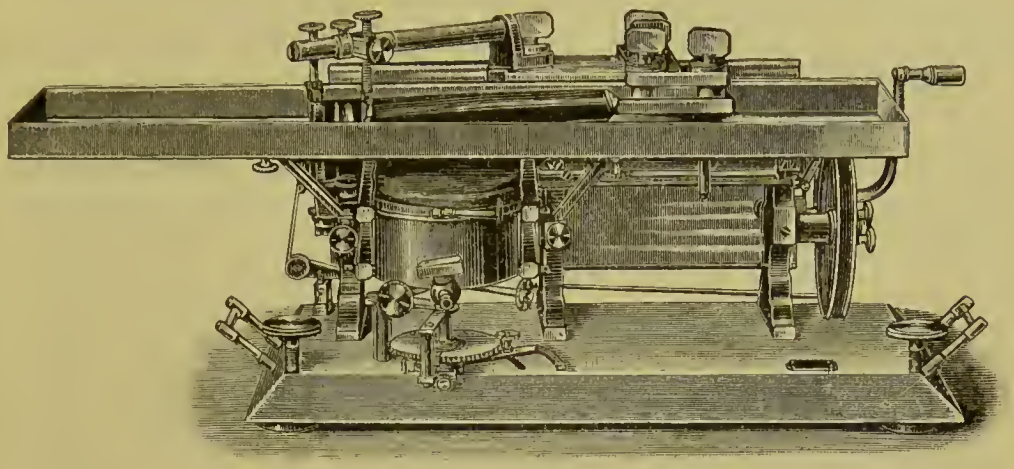

Fig. 42.
Tauchmikrotom von Aug. Becker in Göttingen.

die Schnitte im Moment ihrer Entstehung und Ablösung vom Paraffinblock nicht bloss gut ausbreitet, sondern auch zugleich glatt und sicher auf den Objektträger legt.

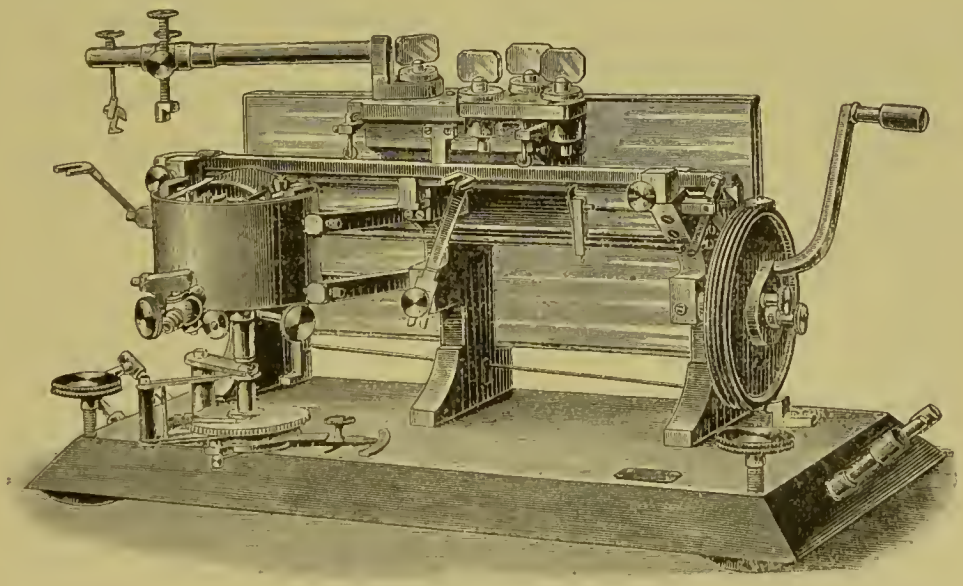

Fig. 43.
Tauchmikrotom von Aug. Becker in Göttingen (ohne Wanne).

Zu diesem Zweck verwendet Strasser ein Widerlager, welches in ähnlicher Weise wie die Schnittstrecker durch ein Papierband sowohl den

[1]) Zu beziehen von A. Meyer & Comp., Zürich, Enge.

noch abzutrennenden Theil des Objekts, wie den bereits auf der Schneide des Messers befindlichen, eben abgetrennten Schnitt niederdrückt. Durch eine Zugvorrichtung rollt sich das Papierband mit dem Schnitt vom Objekt ab, jener folgt dem Papierband, mit dem er durch eine Klebemasse verbunden ist.[1]) Bezüglich der Nachbehandlung dieser Schnitte siehe den betreffenden Absehnitt S. 75.

5. Fromme's Patent-Mikrotom ohne Schlittenführung.[2]) Das Instrument bezweckt eine möglichst gleichmässige Messerführung in einer unverrückbaren Horizontalebene und präcise Hebung des fixirten Präparates. Das Messer wird am freien Ende eines zwischen zwei Spitzen laufenden massiven Krahns befestigt. Der Halbkreisführung des Messers entsprechend, welche mit der rechten Hand ausgeführt wird, und um bei Celloidinpräparaten eine möglichst lange Sehneide auszunützen, ist jenes säbelförmig gekrümmt, d. h. seine Schneide stellt das Bogenstück eines Kreises dar. Jedes stärkere Drücken und Quetschen des Präparates wird dadurch vermieden und nur im Zuge geschnitten.

Von gut schnittfähigen Celloidinobjekten werden tadellose Schnitte von 5 μ Dicke erhalten.

Das Instrument findet auch für Paraffinpräparate Verwendung. In diesem Falle wird es mit einem geraden Messer armirt.[3])

6. Automatisches Mikrotom zum Schneiden trockener Präparate (Paraffinpräparate), welches continuirliche Sehnittreihen liefert, dadurch, dass jeder neue Schnitt an dem vorausgegangenen haftet. Durch Kurbeldrehung können in kürzester Zeit viele Serienschnitte angefertigt werden.

Das eine dieser Instrumente ist das von de Groot in Utrecht construirte (Preis 150 Mk.), das andere jenes von Minot[4]) in Cambridge (Amerika).

Bei diesem steht das Messer fest, mit der Schneide nach oben. Auf einer Scheibe — Präparat- oder Kittplatte — befindet sich der festgeschmolzene Paraffinblock, welcher durch die Kurbel an dem Messer vorbeigeführt und dann wieder gehoben wird.

Bei dem Mikrotom Reinhold-Giltay (Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. IX, 1893) wird das Präparat in senkrechter Gleitbahn über die Klinge (Schneide nach oben) geführt, ähnlich wie bei dem

[1]) Strasser, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, Bd. VII. 1890, pag. 289—317.

[2]) Mikrotom und Klammer sind zu beziehen von Gebrüder Fromme, Wien III, Hainburgerstrasse 21.

[3]) Schaffer. Fromme's Patent-Mikrotom ohne Schlittenführung und eine neue Präparatenklammer. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, Bd. VIII, 1891, pag. 298—302.

[4]) Zu beziehen von Zimmermann (Leipzig-Gohlis), Albertstrasse 10, Preis 175 Mk.

Minot'schen Mikrotom. Für Celloidinpräparate wird das Messer schräg gestellt, so dass die Schneide mit der Horizontalen im Maximum einen Winkel von 80° bildet.

7. Gefriermikrotom. Die meisten der oben aufgeführten Mikrotome lassen sich zu Gefriermikrotomen umgestalten, indem man an Stelle der Objektklammer einen Gefrierapparat bringt. Dieser besteht aus einer Metallplatte oder einem Metallkästchen. Das Objekt wird auf die rauhe Fläche der Platte oder des Kästchens gelegt und leicht mit dem Spatel oder Scalpellstiel angedrückt. Indem nun von unten her ein Aetherzerstäubungsapparat mit seinem Spray auf die Platte wirkt, gefriert das Objekt an und wird hart (s. S. 84 Fig. 37).

Die für das Gefriermikrotom bestimmten Objekte dürfen nicht zu gross sein und höchstens 2—4 mm Höhe haben, da sie sonst schwer gefrieren. Auch dürfen sie keinen Alkohol enthalten. Alkoholpräparate müssen vorher etwa 12 Stunden in einer grösseren Menge Wasser liegen. Präparate aus Müller'scher Flüssigkeit oder Formol können sogleich oder nachdem sie kurze Zeit im Wasser verweilt haben, zum Gefrieren gebracht werden. Nachhärten ist unnöthig.

Das Messer muss abgekühlt, das Präparat durchgefroren, aber doch nicht zu hart sein, weil sonst das Messer nicht fasst.

Man legt das Präparat am besten so auf die Gefrierplatte, dass es an einer Ecke und nicht in der ganzen Seitenlänge vom Messer getroffen wird. Die Schnitte werden vom Messer in etwa 80% Alkohol oder Formol und nicht in Wasser gebracht, da sie sich in ersterem besser als in letzterem ausbreiten. Für gute Erhaltung der Details ist es nothwendig, dass die Objekte rasch gefrieren. Unterbrechung des Gefrierens ist schädlich.

Das Gefriermikrotom findet eine besondere Anwendung für frische der Leiche oder dem Kranken entnommene Stücke (Geschwülste), wenn es sich um eine baldige Diagnose handelt. Obgleich die feineren Strukturverhältnisse durch das Gefrieren leiden, wird doch die gröbere Struktur nicht beeinträchtigt.

Recht handlich für Gefrierschnitte ist das von Jung in Heidelberg construirte Hebelmikrotom.

Johne[1]) hat ein Gefriermikrotom construirt, bei dem die Kohlensäure die Kälte erzeugt.

Ein Vorzug dieses Kohlensäuregefriermikrotoms besteht in dem Wegfall des Aetherzerstäubungsapparates. Die Kohlensäure strömt an die untere Fläche der Objektplatte, welche dadurch rasch weit unter den Gefrierpunkt abgekühlt wird. Organstücke von 8—10 mm Stärke und 2 cm Länge können in 3—5 Secunden gefrieren.

[1]) Zeitschrift für Thiermedicin. N. F. Bd. I, 1897.

Dicke und dünne Schnitte.

Die Dicke der Schnitte kann man beliebig variiren, je nachdem das Präparat mehr oder weniger im Mikrotom gehoben wird; gewöhnlich kann man die Zahl in Hundertel Millimetern direkt an der Mikrometertheilung ablesen.

Der Anfänger glaubt gewöhnlich, für alle Fälle möglichst dünne Schnitte anfertigen zu müssen, während ein geübter Untersucher oft genug absichtlich mit dicken Schnitten arbeitet. Sehr dünne Schnitte haben folgende Nachtheile:

1. sie sind schwer zu handhaben; es kostet oft viel Zeit, sie genau auszubreiten;
2. kommt es oft vor, dass aus den Maschenräumen sehr dünner Schnitte die darin enthaltenen Elemente herausfallen; dies ist oft nachtheilig, da damit oft gerade die Dinge, auf die es uns ankommt, verloren gehen. Deshalb ist auch die in der normalen Histologie öfters geübte Procedur des Auspinselns, resp. Schüttelns der Schnitte, durch welche dicke Schnitte durchsichtig gemacht werden, bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen nur mit Einschränkung zu empfehlen;
3. wenn man auf Elemente fahndet, die in einem Organ nur in spärlicher Zahl zerstreut sind, z. B. thierische oder pflanzliche Parasiten, so hat man naturgemäss mehr Chancen, dieselben in etwas dicken Schnitten zu finden, vorausgesetzt, dass die Schnitte genügend durchsichtig sind und die gesuchten Elemente sich von der umgebenden Substanz gut absetzen;
4. erhält man bei dicken Schnitten nicht selten bestimmte stereometrische Vorstellungen über die Struktur des betreffenden Objekts, indem man mehrere, über einander gelegene Schichten direkt in situ und in continuo durchmustert, während bei extrem dünnen Schichten lediglich Flächenbilder entstehen.

Andererseits ist es ja klar, dass viele, besonders zartere Strukturen, überhaupt nur an dünnen Schichten sichtbar werden, während sie an dickeren Schnitten in Folge der vielen, über einander gelegten Contouren vollkommen verschwinden.

Von frischen Organen kann man für die meisten Zwecke sehr gut Schnitte von 0,03 mm, ja sogar von 0,01 mm Dicke benutzen; von gehärteten Präparaten verwendet man meist dünnere Schnitte, besonders wenn sie tingirt werden, durchschnittlich etwa von 0,01—0,03 mm.

Schneiden der Celloidinpräparate.

Die Celloidinschicht wird um das Objekt herum bis auf eine 1 bis 2 mm dicke Lage abgetragen und der Celloidinblock durch etwas flüssiges Celloidin auf Holz oder Stabilit befestigt.

Das Messer wird in spitzem Winkel zu dem Objekt gestellt und mit 70—85% Alkohol befeuchtet. Der Schnitt darf nicht an der Klinge kleben.

Von Celloidinpräparaten sind sehr feine Schnitte (unter 0,02 mm) nur bei Benutzung von 85procentigem Alkohol zum Einbetten und Schneiden zu gewinnen. Siehe Busse, Seite 71.

Zeigt sich nach den ersten Schnitten, dass das Präparat nicht vollkommen von Celloidin durchtränkt ist, so braucht man es nicht aufs Neue einzubetten, sondern durchtränkt nur Schicht für Schicht mit Celloidin (Collodionage der Oberfläche). Man überzieht die Oberfläche des Präparates mit einer dünnen Celloidinschicht, lässt diese trocknen und schneidet die oberflächliche Lamelle ab. Das Verfahren der Oberflächencollodionage muss vor jedem Schnitt wiederholt werden.

Schneiden der Paraffinpräparate.

Eine Conditio sine qua non beim Schneiden der Paraffinpräparate ist die gute Consistenz derselben. Die Präparate müssen gut conservirt, vollkommen entwässert und frei von Chloroform sein, und das Paraffin muss die geeignete Consistenz besitzen. Objekte, die bei dem Durchtränken mit heissem Paraffin leicht zu sehr erhärten, z. B. Muskeln, wird man besser für die Celloidineinbettung verwenden.

Der Paraffinblock mit seinem eingeschmolzenen Objekt wird bei dem Schanze'schen Mikrotom auf das erwärmte Tischchen, welches an Stelle der Objektklammer eingesetzt wird, aufgedrückt oder er kommt in den mit hartem Paraffin ausgegossenen Hohlcylinder des Jung'schen Mikrotoms, der ebenso wie die Grundfläche des Paraffinblocks erwärmt wird, damit beide, Block und Paraffin des Cylinders, besser aneinander haften. Zum Zweck rascher Erstarrung bringt man dann Tischchen und Hohlcylinder auf 5 Minuten unter den Strahl der Wasserleitung oder in kaltes Wasser. Von dem Paraffinblock wird nach und nach soviel abgetragen (abgeschabt), bis derselbe ein vierseitiges Prisma von 1 cm Höhe darstellt. Die das Objekt umgebende Schicht des Paraffinblocks soll nur 1—2 mm Dicke haben.

Die Paraffinobjekte werden trocken geschnitten.

Das Messer (mit planen Flächen) ist schräggestellt, bei grösseren Objekten in einem spitzen Winkel zur Längsachse des Mikrotoms, so dass es beim Durchziehen eine Seite des Präparats trifft. Der Messerschlitten wird langsam und ohne Druck bewegt.

Man giebt am besten dem Paraffinblock eine dreieckige Grundfläche, und führt das Messer so durch, dass es zuletzt die Spitze desselben durchtrennt. Diese Schnitte lösen sich leichter vom Messer, weil sie nur an einem Punkt und nicht mit der ganzen Seite haften.

Das Messer wird quergestellt, so dass die Schneide die breitere Seite des quergestellten Blockes trifft. Der Messerschlitten wird rasch bewegt. Hat das Paraffin die richtige Consistenz und bildet der Block ein Rechteck, so legt sich der Schnitt flach an und jeder folgende bleibt an dem vorangegangenen kleben. Wir erhalten ein Schnittband. Siehe Schnittbänder.

Die quere Durchtrennung des Präparates bedingt Faltung und Verzerrung und ist nur bei kleinen Objekten anwendbar.

Am Rollen der Schnitte ist die Härte des Paraffins schuld. Dieser Uebelstand ist durch weicheres Paraffin oder durch die Zugabe von Cedernöl zu vermeiden. Die Consistenz des Paraffins ist von der äusseren Temperatur sehr abhängig. Ist es zu hart, so schneidet man in der Nähe des Ofens, in der Nähe einer Gaslampe oder mit leicht erwärmtem Messer. Ist es zu weich, bringt man es unter die Wasserleitung oder schneidet mit abgekühltem Messer.

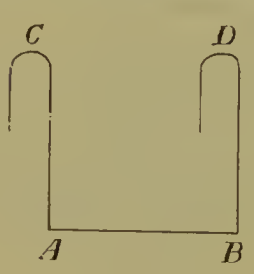

Fig. 44.
Schnittstrecker aus Draht.

Schnittstrecker. Das Rollen zu verhüten, bedient man sich der sogenannten Schnittstrecker. Es sind dies Vorrichtungen aus Metall, welche am Messer befestigt werden und den Schnitt leicht an die Klinge andrücken. Ein sehr einfacher Schnittstrecker ist der von Francotte. Man nimmt einen Eisendraht von ca. 1 mm Durchmesser, macht ihn auf der Weingeistlampe glühend, biegt ihn zweimal rechtwinklig um und krümmt die umgebogenen Stücke an den Enden noch einmal hakenförmig um.

Diese Haken werden am Rücken des Messers befestigt. Das Stück AB, 10—12 mm lang (Fig. 44) reicht bis nahe an die Schneide des Messers. Der Schnitt muss unter ihm passiren und kann sich nur unvollkommen rollen.

Einen sehr guten Schnittstrecker hat Born construirt.

Die gleichen Dienste leistet ein elastischer Pinsel, mit welchem man beim Schneiden den Schnitt leicht an die Klinge drückt, oder ein schmaler Streifen steifen Papiers, den man etwas einrollt. Mit diesem eingerollten Theil des Papiers, der leicht federt, drückt man den Schnitt an das Messer.

Weitere Behandlung der Schnitte.

Die Schnitte werden von der Mikrotomklinge (resp. dem Rasirmesser oder Doppelmesser) in ein mit Flüssigkeit gefülltes Glasschälchen übertragen und zwar am besten mittelst eines weichen, angefeuchteten Pinsels. Die Flüssigkeit ist für frische Schnitte Kochsalzlösung, in der sie direkt untersucht werden, für Gefrierschnitte 70—80% Alkohol oder Formol, in welchem sie sich besser aufrollen, als in dünner Kochsalzlösung oder Wasser, für Schnitte von Alkoholpräparaten zunächst Alkohol, dann meist destillirtes Wasser. Bei den weiteren Manipulationen, die mit den Schnitten vorgenommen werden, können diese leicht zu Grunde gehen; sie müssen behufs der Einwirkung von Reagentien und Farbstoffen oft aus einem Glasschälchen in das andere, zuletzt auf den Objektträger unbeschädigt über-

tragen werden. Man benutzt dazu am besten leicht gebogene dünne Spatel (Fig. 28, S. 77), Streifen von Kupfer- oder Platinblech oder auch von verniekeltem Stahl, die vorsichtig unter den in der Flüssigkeit schwimmenden Schnitt gebracht werden; nur so kann ein feiner Schnitt ohne Faltungen herausgehoben und in eine neue Flüssigkeit übertragen werden. Auch der Objektträger muss stets zuerst mit einer hohen Flüssigkeitsschicht bedeckt sein, ehe der Schnitt auf ihn gebracht wird, damit er mehr durch leichte Flüssigkeitsströmung von dem Spatel herabgleitet. Dann wird das Deckglas aufgelegt und die im Uebersehuss vorhandene Flüssigkeit durch eine Kapillarröhre oder durch Fliesspapier aufgenommen. Der Objektträger liegt hierbei auf einer schwarzen (bei ungefärbten Objekten) oder auf einer weissen Unterlage (bei gefärbten Objekten).

Die von Alkohol-Präparaten hergestellten Schnitte breiten sich in destillirtem Wasser unter lebhaften Bewegungen, die durch die Diffusionsströme bedingt sind, aus und verwandeln sich aus dem geschrumpften, runzeligen Zustande in durchsichtige Platten. Nachdem die Schnitte auf dem Objektträger in destillirtem Wasser sich ausgebreitet, wird dann in den meisten Fällen Glycerin vom Rande her zugegeben. In dem zähflüssigen Glycerin lassen sich feine, grössere Schnitte weniger gut als im Wasser ausbreiten.

Schnitte frischer oder conservirter Präparate können nun ohne Weiteres untersucht oder eventuell vorher noch gefärbt werden.

Celloidin- und Paraffinpräparate müssen aber für die weitere Untersuchung noch präparirt werden. So ist bei Paraffinpräparaten und unter Umständen auch bei Celloidinpräparaten die Entfernung der Einschlussmasse nöthig. Bei diesen Manipulationen leiden aber die Schnitte, sie fallen unter Umständen auseinander, was ja zum Theil die Einbettung verhüten sollte. Wir suchen diesen Uebelstand dadurch zu umgehen, dass wir die Schnitte auf dem Objektträger festkleben. Dadurch erleichtern wir uns zugleich wesentlich die übrige Präparation wie die Färbung und vereinfachen sie besonders für die Behandlung einer grösseren Schnittzahl oder von Serienschnitten. Vor Allem, wenn es sich um Herstellung einer grossen Zahl von Schnitten zarter Paraffinpräparate für Unterrichtszwecke handelt, wird man gut thun, dieselben auf Glimmerplatten aufzukleben, die man dann entsprechend den einzelnen Schnitten wieder in kleinere Platten zerlegt.

Für Celloidinschnitte ist die weitere Behandlung folgende:

1. Färben und Auswaschen;
2. Entwässern einige Secunden bis 3 Minuten in 96procentigem Alkohol, worin sich Celloidin löst;
3. Aufhellen in Bergamott-, Cedern-, Origanumöl oder Xylol;
4. Canada.

Will man das Celloidin erhalten, empfiehlt sich die Entwässerung in Bergamott- oder Origanumöl, oder in Kreosot.

Die Nachbehandlung der Paraffinschnitte.

1. Entfernung des Paraffins durch Xylol oder Toluol;
2. Alkohol;
3. Wasser, Färben, Entfärben, Alkohol, Einschluss.

Serienschnitte.

Nicht nur für den Embryologen und Anatomen, sondern auch für den Pathologen ist die Herstellung einer ununterbrochenen Schnittreihe oft nöthig, wo es sich darum handelt, die Lagevcrhältnisse der Theile in verschiedenen Gegenden, die Ausbreitung eines Processes, die Entwickelung einer Neubildung zu studiren. Zu dem Zweck ist es angenehm, die aufeinander folgenden Schnitte auf dem Objektträger, sei es einzeln, sei es in sogenannten Bändern, ordnen, fixiren und unter Umständen sogar erst nachträglich färben zu können. Selbstverständlich kann es sich bei einer derartigen Ordnung in Schnittbändern nur um kleinere und mittelgrosse Objekte handeln. Für grössere Objekte wird es nöthig, die einzelnen Schnitte getrennt zu behandeln. Es empfehlen sich dafür die erwähnten Fayenceplatten von Siegfried Sohn in Strassburg, welche eine verschiedene Zahl von Kammern für die Schnitte enthalten. Siehe Geräthe Seite 6.

A. Schnittserien von Celloidinpräparaten. Will man die Schnitte als Serienschnitte in Balsam oder Glycerin auf dem Objektträger geordnet aufbewahren, so übergiesst man diesen mit einer dünnen Collodiumschicht, lässt diese trocknen und ordnet dann auf ihr die aus 96procentigem Alkohol kommenden Schnitte in dünnem Alkohol, oder man legt dieselben einfach auf den Objektträger.[1]) In beiden Fällen lässt man den Alkohol soweit abdunsten, dass die Schnitte nur noch feucht sind, und setzt den Objektträger dann Aetherdämpfen aus. Es geschieht dies in der Weise, dass man entweder die Fläche des Objektträgers, auf der die Schnitte sich befinden, mit den Schnitten nach unten, auf die breite Oeffnung eines Aetherglases oder eines Schälchens mit Aether legt oder, was noch besser ist, man nimmt einen weiten Präparatencylinder, stellt in diesen einen Tisch, dessen Platte aus einem durchbrochenen Blech oder einem feinen Siebe (Drahtnetz) besteht, giesst auf den Boden des Cylinders Aether und legt nun die Objektträger auf den Tisch mit der Objektseite nach oben. Dann schliesst man den Cylinder und kann nun die Präparate beliebig lange in den Aetherdämpfen lassen.

Das Anbringen eines Collodiumhäutchens auf dem Objektträger empfiehlt sich dann, wenn die Schnitte auf dem Objektträger erst gefärbt

[1]) Summers, H. E., New Methode of fixing sections to the slide. (Americ. monthly Journ. Vol. VII, 1887, und Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. IV, 1887.)

werden. Gefärbte Schnitte werden direkt in Balsam übertragen. Schnitte, die auf dem Objektträger behandelt werden, müssen alle Manipulationen langsamer durchmachen als freie.

Statt des Balsams ist auch Glycerin als Conservirungsmittel zu verwenden.

Für Schnittserien des Centralnervensystems[1]) ist die Durchtränkung mit Paraffin schon wegen der Grösse mancher Objekte nicht anwendbar. Wir sind darum auf Celloidinpräparate angewiesen. Die einzelnen Schnitte lassen sich aber nur mit Zeitverlust der Weigert'schen Hämatoxylinbehandlung unterwerfen. Diese wird darum an den bereits auf Glasplatten fixirten Schnittserien vorgenommen. Ein solches Verfahren verdanken wir dem zuletztgenannten Forscher. Dasselbe zerfällt in vier Akte.

1. Herstellung der Glasplatten. Man übergiesst die Objektträger (oder grössere Glasplatten) gleichmässig mit Collodium und lässt sie trocknen, indem man sie auf die Kante stellt.

2. Anfertigung der Schnittserien. Die Schnitte werden vom Messer nicht mit dem Pinsel oder Nadeln abgenommen, sondern sogleich in Bandform gebracht. Dazu dient poröses, zähes Papier, welches durch den Alkohol durchscheinend wird (Closetpapier). Von diesem Papier werden schmale Streifen etwa von der doppelten Breite der Schnitte geschnitten. Mit einem solchen Streifen nimmt man die Schnitte vom Messer in der Weise, dass man unter leichter Anspannung des Papiers dieses auf den Schnitt legt und dann in der Richtung der Messeroberfläche nach links hin (aber über die Schneide des Messers hinaus) waagerecht oder ein ganz klein wenig nach aufwärts abzieht. Liegt der Schnitt mit seinem linken Rande nicht dicht an der Messerschneide, so schiebt man ihn mit einem zarten Pinsel dahin. Mit einem solchen verbessert man auch die Stellung des Präparates, ehe man das Papier darauf bringt. Das Abziehen des Schnittes gelingt nur dann gut, wenn derselbe nicht in gar zu viel Spiritus schwimmt. Man erhält auf diese Weise Schnittreihen auf dem Papier, indem man den nächsten Schnitt immer an die rechte Seite des vorhergehenden legt.

Die für einen Streifen bestimmte Schnittreihe darf nicht grösser sein als die Länge der präparirten Glasplatten. Will man die Schnitte später unter Deckgläschen ausbreiten, so thut man gut, sie sogleich in Gruppen abzutheilen, die der Grösse der Deckgläser entsprechen, und zwischen den Gruppen einen breiteren Raum zu lassen.

Um die Papierstreifen mit den Schnitten, sowohl während des

[1]) Weigert, Ueber Schnittserien von Celloidinpräparaten des Centralnervensystems zum Zwecke der Markscheidenfärbung. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, 2. Bd., 1885, S. 490.

Schneidens der nächsten Präparate als auch später, wenn die Streifen belegt sind, bis zum Ende der Procedur überhaupt feucht zu halten, legt man die Streifen in einen flachen Teller, auf welchem sich mehrere Lagen gut mit Spiritus durchfeuchtetes Fliesspapier befinden, die mit einer Schicht Closetpapier bedeckt sind. Unter den Papierlagen kann wohl noch etwas freier Spiritus sein, an der Oberfläche jedoch nicht, doch muss letztere stets überall recht feucht sein. Auf diese legt man die Papiere so hin, dass die Schnitte nach oben sehen und der Streifen der Unterlage gut anliegt. Die Schnittbänder können so stundenlang liegen, wenn nur die Unterlage immer feucht ist. Die Bänder müssen, wenn man deren mehrere benützt, in der richtigen Reihenfolge liegen, das erste Band oben, der erste Schnitt links.

3. Uebertragen der Schnitte auf die collodiumbekleideten Glasplatten. Damit dies ohne Schaden für jene und ohne Beeinträchtigung ihrer Lage geschehen kann, muss auf der Schnittseite der Papierstreifen genügende Feuchtigkeit sein. Man legt diese Seite auf die angetrocknete Collodiumschicht, drückt von der anderen Seite ganz sanft den Streifen an die Glasplatte und zieht vorsichtig den Papierstreifen ab. Die Schnitte bleiben an der Collodiumschicht haften. Durch Auflegen von Fliesspapier entfernt man die Flüssigkeit um die Schnitte, hüte sich jedoch, diese ganz vertrocknen zu lassen.

4. Zweite Collodiumschicht. Bevor man noch die Papierstreifen entfernt, hat man die Collodiumflasche eröffnet und giesst nun eine dünne und gleichmässige zweite Collodiumschicht sogleich über die Schnitte. Die Glasplatte wird dann auf die Kante gestellt.

Ist die Collodiumschicht oberflächlich trocken, so kann man die Reihenfolge der Schnitte durch einen feinen, in Methylenblau getauchten Pinsel beliebig markiren.

Färben und Differenziren. Die leicht getrocknete Platte kann man direkt in die Farbflüssigkeit bringen. Will man mit der Färbung warten, so legt man die Collodiumplatten in 80procentigen Alkohol.

Im Hämatoxylin löst sich bald die Collodiumschicht sammt den Schnitten von der Unterlage ab. Die Schnitte bleiben aber in der Reihenfolge und können in den zähen Collodiumplatten in der gewöhnlichen Weise gefärbt und ausgewaschen werden. Nach der Differenzirung mit Blutlaugensalz lasse man die Schnittreihen mindestens eine Stunde in mehrfach erneuertem Wasser.

Einlegen der Schnittreihen von Celloidinpräparaten. Die abgelösten Collodiumplatten oder Stücke solcher kommen in 90- bis 96procentigen Alkohol (nicht in absoluten).

Zur Aufhellung empfiehlt sich Carbolxylol oder Benzin und Alkohol. Die Serien verweilen darin länger als einzelne Schnitte.

Die in Carbolxylol (Xylol 3, Acid. carbol. pur. 1) auf dem Objektträger liegenden Celloidinschnitte werden nach Aufsaugung des Ueberschusses durch aufgelegte Fliesspapierbäusche getrocknet und gleichmässig an den Objektträger gedrückt. Dann giesst man eine dünne Schicht von photographischem Negativlack auf und lässt diesen trocknen. Leichtes Erwärmen beschleunigt dies. Sobald die erste Schicht trocken, kommt eine zweite dünnere darauf. Man wiederholt dies, bis der Lack glänzend bleibt. Drei Schichten genügen meist. Will man mit Oelimmersion untersuchen, so bringt man einen Tropfen Wasser auf die Lackschicht und darauf ein Deckplättchen. (Für Schnitte, die mit Anilinfarben gefärbt sind, eignet sich das Verfahren nicht, Carbolxylol zerstört sie.[1])

Apathy[2]) überträgt die bereits gefärbten Celloidinschnitte auf einen mit Bergamottöl befeuchteten Streifen Pauspapier. Man lässt das Oel abfliessen, dreht das Papier um, glättet den Streifen, legt die Seite mit den Schnitten auf einen gut abgetrockneten Objektträger und trocknet den Streifen mit Löschpapier, indem man ihn sanft an das Glas drückt. Nun löst man den Streifen Pauspapier, drückt die Schnitte mit einem Streifen glatten Löschpapiers an und fügt Kanadabalsam zu.

Schnittserien von Paraffinpräparaten. Man ordnet die Einzelschnitte der Reihe nach in Kästen, die verschiedene kleine Fächer enthalten und überträgt die Schnitte, sobald eine grössere Zahl verfügbar ist, auf den besonders zugerichteten Objektträger. In Bänder angeordnete Schnitte kommen direkt auf den Objektträger. S. Seite 16.

Schnittbänder. Beim Mikrotomiren von Paraffinpräparaten haften oft die Schnitte in der Reihenfolge, wie sie angefertigt wurden, mit ihren zusammenstossenden Rändern wie die Glieder eines Bandwurms aneinander (Schnittband).

Bedingungen für die Gewinnung von Schnittbändern sind eine gewisse Beschaffenheit der Einbettungsmasse, die Form und Grösse des Paraffinstücks, welches das zu schneidende Objekt enthält, und einige besondere Handgriffe, wie rasches Schneiden der Paraffinobjekte.

Reines Paraffin (Schmelzpunkt bei 50° C.) wird in einer Porzellanschale offen über der Spiritusflamme geschmolzen und dann erhitzt, bis weisse Dämpfe aufsteigen (1—6 Stunden) und die Masse eine honiggelbe Farbe angenommen hat. Man lässt diese erkalten. Die entwässerten, dann mit Terpentin oder Xylol durchtränkten Präparate kommen noch in eine Mischung von Terpentin oder Xylol mit obigem Paraffin (1 : 3) und dann erst in das Paraffin bei 50—55° C. $^1/_4$—6 Stunden. Man lässt darauf die Masse mit dem Objekt erkalten.

[1]) C. Weigert. Ueber Aufbewahrung von Schnitten ohne Anwendung von Deckgläschen. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. IV. S. 209. 1887.
[2]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. V. 1888.

Das zu schneidende kleine Paraffinstück wird nun so gestaltet, dass es ein Rechteck bildet. Die Ränder der zu machenden Schnitte müssen genau parallel sein, dass der dem Messer zugekehrte, wie der davon abgekehrte Rand genau aufeinander passen. Das Anhaften der Schnitte wird wesentlich unterstützt, indem man auf die Schneidefläche des Paraffinblockes mit der erwärmten Messerklinge etwas fadenziehendes erwärmtes Paraffin (Schmelzpunkt 40°) bringt. Das Paraffinstück wird vermittelst eines heissen Spatels auf Holz oder der Metallplatte des Mikrotoms festgeschmolzen. Die breiten Seiten stehen parallel zur Schneide des Messers und dieses senkrecht zur Schlittenführung.

Die Schnitte müssen von gleicher Dicke sein, nicht dicker als 0,01 mm. Dickere Schnitte rollen leicht.

Die Schnittbänder werden durch eine Klebemasse auf dem Objektträger befestigt.

Combination der Paraffin- und Celloidinbehandlung.

Grössere, leicht zerbrechliche Paraffinschnitte werden bei dem Weigert'schen Verfahren (Einschluss in 2 Collodiumplatten) leichter der verschiedenen Nachbehandlung unterworfen, als bei dem Aufkleben auf Objektträger. Die Färbung der Schnitte vollzieht sich rascher und gleichmässiger von beiden Seiten, als bei der Färbung auf dem Objektträger, und es empfiehlt sich darum, in ähnlicher Weise, wie die Celloidinschnitte, auch die Paraffinschnitte zwischen Collodiumplatten zu behandeln. Hierzu dienen provisorische Objektträger von Papier.

Blätter oder Streifen von glattem, starkem Schreibpapier oder mit Wachs durchtränktem Papier werden mit Heftstiften auf einer Unterlage (Brett, glatte Pappe) befestigt und mit einem grossen, weichen Pinsel mit einer gleichmässigen Schicht einer von Luftblasen freien Klebemasse bestrichen. Als Klebemasse genügt nach den letzten Mittheilungen von Strasser[1]) schon eine dünne Schicht einer dicken Gummilösung oder eine solche von Collodium — Papier-Gummi-Collodiumplatten.

Collodium concentratum duplex	1 Theil.
Ricinusöl	3 Theile.

Die Lösung bleibt lange an der Luft und wird von Zeit zu Zeit mit einigen Tropfen oder von vornherein mit 1 Theil Alkohol absol. verdünnt.

Oder	Collodium . . .	1 Theil,
	Ricinusöl . . .	2 Theile,
	Alkohol	1 Theil.

[1]) Strasser. Die Nachbehandlung der Schnitte bei Paraffineinbettung. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. VII. 1890, pag. 289—367.

Strasser. Weitere Mittheilungen über das Schnitt-Aufklebemikrotom und die Nachbehandlung der Paraffinschnitte auf Papierunterlage. Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. IX, Heft 1, 1892.

Aufkleben der Schnitte. Die auf das Papier glatt aufgelegten Schnitte müssen von der Klebemasse durchfeuchtet sein. Dann überzieht man mit einem grösseren, weichen Pinsel Schnitt und Papier mit der Collodiummasse. Vortheilhafter dürfte es sein, um die Präparate ganz mit Collodium zu umhüllen, auch die erste Klebeschicht mit ihm herzustellen.

Die Papiercollodiumplatten werden zwischen Stramin horizontal gelagert aufbewahrt.

Hierauf folgt die Umwandlung des Paraffinschnitts in einen Celloidinschnitt. (Fertigstellung zur Färbung.)

Die auf Papierbänder aufgeklebten Schnitte kommen zwischen Stramin in das Benzin-Terpentinbad zur Entfernung des Paraffins.

Hierauf lässt man die Schnitte abdunsten oder eventuell abtrocknen und bringt sie zwischen Stramin auf 12 Stunden in Alkohol von 95%.

Dann werden sie collodionirt, indem man sie durch Collodium conc. simpl. zieht, und sobald dieses erstarrt ist,[1]) die Procedur wiederholt.

Die Schnitte werden für die weitere Behandlung in Alkohol von 80 % oder in einem Glycerin- und Alkohol-Gemisch oder in Glycerin bis zu dem Zeitpunkt aufbewahrt, in welchem man die Färbung vornehmen will.

Zur Ablösung der Collodiumschicht mit den Schnitten von dem Papier genügt 5 Minuten langes Einlegen in Wasser.

Färbung. Die Häutchen werden entweder einzeln, wo eine Ueberwachung des einzelnen Schnittes nothwendig ist, in die Farblösung gebracht, oder, wenn eine genauere Controle überflüssig ist, zwischen Stramin gefärbt.

Auch beim Entwässern in Alkohol liegen grössere Häutchen zwischen Stramin. Zuletzt wird, sei es vor dem Einbringen in 95procentigen Alkohol, sei es bei der Herausnahme aus diesem, unter jedes Häutchen ein passend zugeschnittenes Blatt weisses Schreibpapier geschoben. Mit diesem wird das Häutchen gut ausgebreitet, vorsichtig über den niedrigen Rand der Schale gezogen und mit Filtrirpapier abgetrocknet.

Aufhellung und provisorischer Einschluss. Die Häutchen kommen mit ihrer Unterlage aus dem starken Alkohol, nachdem sie gut abgetrocknet sind, in eine Mischung von

Terpentinöl . . . . . 3 Theile,
Kreosot . . . . . 1 Theil,

dann Einschluss in Canadabalsam.

Für längere Aufbewahrung werden die Häutchen aus dem Terpentin-Kreosot in Paraffin. liquid. übertragen. Ist der Complex damit gut durchtränkt, kommt er, das Collodiumhäutchen nach unten, auf ein zweites, gleichfalls mit Paraffin. liquid. behandeltes gleich grosses Schreibpapier.

[1]) Nach den letzten Mittheilungen Strassers ist ein neuer Ueberzug der aufgeklebten Schnitte mit Klebemasse (Collodium) vor dem Einlegen ins Benzinbad durchaus nicht nöthig. Er muss aber später folgen, falls der Schnitt nur mit Gummi aufgeklebt wurde.

Dieser dreiblättrige Complex kann zwischen Filtrirpapier aufbewahrt werden, um die einzelnen Häutchen gelegentlich zwischen Glas in Harz einzuschliessen.

Die Reihenfolge der Proceduren bei der Anfertigung von Schnitten mit dem Schnitt-Aufklebemikrotom und der Umwandlung von Paraffin- in Celloidinschnitte bis zum provisorischen Einschluss ist demnach:

A. Schneiden und Aufbanden der Schnitte auf gummirtes Papier. Nummeriren.

B. Umwandlung des Paraffinschnittes in einen Celloidinschnitt (Vorbereitung zur Färbung), und zwar:

1. Einlegen der Platten zur Entfernung des Paraffins in das (Benzin-Terpentin-) Bad, horizontal, zwischen Stramin. Einige Stunden.
2. Abdunstenlassen auf dem Nagelbrett (eventuell Abtrocknen).
3. Einlegen in 95procentigen Alkohol zwischen Stramin, 12 Stunden.
4. Abdunstenlassen oder Abtrocknen.
5. Collodioniren.
6. Vorläufige Aufbewahrung in 80procentigem Alkohol oder Glycerin-Alkohol.

C. Färben unter Entfernung der Papierunterlage, Differenziren u. s. f.

D. Entwässern, Aufhellen, Einschliessen.

1. Einlegen in schwächeren Alkohol (eventuell zwischen Stramin), und
2. mit neuer Papierunterlage, nach Abtrocknen, in starken Alkohol;
3. Durchtränken mit Terpentin-Kreosot und Paraffin. liquid.;
4. Zudecken mit einem zweiten Papierblatt und Einreihen in das Album;
5. Definitiver Einschluss in Harz oder Terpentin.

Aufkleben von Serienschnitten.

Um das Zerfallen der Präparate bei Entfernung der Einbettungsmasse zu verhüten, und zur Fixirung der Schnitte oder Schnittbänder auf dem Objektträger hat man verschiedene Klebemassen empfohlen: Schellack in Alkohol,[1]) Eiweiss,[2]) Collodium und Nelkenöl,[3]) Collodium und Ricinusöl,[4]) Kautschuck in Benzin,[5]) Gummi arabicum,[6]) Gelatine,[7]) Guttapercha,[8]) Schellack, Collodium und Nelkenöl,[9])

[1]) Giesebrecht, Zoologischer Anzeiger No. 92. 1881.
[2]) Meyer, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. V. Bd. 1885.
[3]) Schällibaum, Archiv f. mikroskopische Anatomie. XXII. Bd. 1883.
[4]) Strasser, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. V. Bd. S. 444.
[5]) Threlfall, Zoologischer Anzeiger. 1883.
[6]) Flögel. Citirt in Francotte. S. 327.
[7]) Francotte, Manuel de technique microscopique. S. 328. Poli, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. V. 1888.
[8]) Frenzel, Zoologischer Anzeiger No. 130. 1883.
[9]) Leboucq, Société de Médecine de Gand. 1884.

Gummi, Chromalaun und Glycerin,[1]) Quittenschleim,[2]) Eiweiss und Glycerin. Die eben aufgezählten Methoden sind von sehr verschiedenem Werthe. Bei einigen ist eine nachträgliche Färbung der Schnitte in wässerigen Farblösungen unmöglich, weil die Klebmasse darin sich löst. Andere Fixative lösen sich wieder in Alkohol, andere färben sich etc.

Aufkleben von Celloidinpräparaten. Für kleine Präparate genügt das S. 94 angegebene Verfahren, indem man das Celloidin durch Aetherdämpfe löst und dann durch Verdunsten des Aethers wieder erhärtet.

Für grössere Präparate empfiehlt sich das S. 95 angegebene Collodium-Verfahren Weigerts.

Jordan[3]) fixirt die Celloidinschnitte mit Eiweiss. Die Celloidinschnitte werden aus 80—86procentigem Alkohol und nicht aus Wasser auf die mit dünner Eiweissschicht versehenen Objektträger mit starkem Seidenpapier übertragen und festgetupft. Das Papier bleibt auf dem Schnitt, ein zweiter Objektträger wird darüber gelegt, beide Objektträger werden aneinander gedrückt und das Ganze an der Stelle, an welcher das Eiweiss coaguliren soll, von unten vorsichtig über der Flamme erwärmt. Hierauf werden die zwei Objektträger mit dem dazwischen befindlichen Präparat in 96procentigen Alkohol übertragen und dann der zweite Objektträger und das Papier entfernt. Hierauf Uebertragung des Präparats in das Lösungsmittel Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen oder Essigäther. Eine Deformation des Schnittes tritt nicht ein.

Aufkleben der Paraffinpräparate. Unterguss von Glyceringelatine. Für vorgefärbte Schnitte, die jedoch für den Pathologen weniger in Betracht kommen, zieht man mit einem feinen in eben geschmolzene Glyceringelatine getauchten Pinsel so viel zarte Striche auf dem Objektträger, als man Präparate aufzukleben wünscht. Die mit einem Pinsel auf die Gelatinestriche übertragenen Schnitte werden leicht angedrückt.

Glyceringelatine:

Gelatine	1 Thl.
Destill. Wasser . . .	6 Thle.
Glycerin	6 „

Auch Gummi arabic. 1 : 20 gr. Wasser lässt sich in der gleichen Weise wie Leim benutzen. Ist die Gummischicht trocken, wird sie leicht angehaucht.

Bei der Schellackmethode von Giesebrecht (für durchgefärbte Präparate) wird der gereinigte und erwärmte Objektträger mit einer concentrirten Lösung von weissem Schellack in Alkohol mit Hilfe eines damit benetzten Glasstabes rasch in gleichmässig dünner Schichte überzogen.

[1]) Frenzel, American. Naturalist. 1885.
[2]) Born und Wieger, Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. II. Bd. 1885.
[3]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XV. 1898 S. 50.

Nach Verdunsten des Alkohols wird die Schellackschicht mit einer zarten Lage von Kreosot oder Nelkenöl überdeckt, die Schnitte werden aufgelegt und angedrückt. Hierauf kommt der Objektträger in den Wärmeschrank oder auf das Wasserbad 10 Minuten, Kreosot oder Nelkenöl verdunsten, und letzteres verharzt zum Theil, das verflüssigte Paraffin wird mit Terpentin oder Xylol entfernt und dann in Balsam eingeschlossen. Man kann auch das Nelkenöl vermeiden, indem man den Objektträger mit dem Schellacküberzug und den Schnitten auf einer Flamme erwärmt, bis das Paraffin schmilzt. Der Schnitt wird nach dem Erkalten von dem erhärteten Schellack eingeschlossen.

Die Schellackmethode hat den Nachtheil, dass der Schellack mit der Zeit Feuchtigkeit aufnimmt, wodurch die Präparate sich trüben.

Collodium-Ricinusöl-Verfahren von Strasser. Man überzieht den Objektträger mit einer Klebemasse aus

Collodium	2	Volumina,
Aether	2	„
Ricinusöl	3	„

Die Schnitte werden glatt aufgelegt; sobald sie gehörig durchfeuchtet sind, erwärmt man den Objektträger ein wenig und streicht mit einem Pinsel eine Schicht Klebemasse über ihn aus; Xylolbad, Balsam.[1]) Absoluter Alkohol ist ausgeschlossen, daher Stückfärbung.

Für die weitere Behandlung der auf Objektträger geklebten Schnitte empfiehlt Strasser niedrige Blechschalen mit siebartig durchlöchertem Boden, von denen jede gerade einen Objektträger fasst.

Collodium-Nelkenölverfahren von Schällibaum. Der Objektträger wird mit einer Lösung von Collodium und Nelkenöl 1 : 3—4 Theile überzogen, die Schnitte in der Reihenfolge aufgelegt, einige Stunden bis 50—60° erwärmt oder einige Sekunden bis $^1/_2$ Minute über der Flamme bewegt, bis das Nelkenöl zu Tropfen zusammengeflossen ist. Nach dem Erkalten Entfernung des Paraffins mit Xylol etc.

Soll die Färbung auf dem Objektträger vorgenommen werden, so lässt sich das Verfahren von Schällibaum oder die von Strasser empfohlene Modification anwenden. (Entfernung des Paraffins durch Xylol, absoluter Alkohol, verdünnter Alkohol, dann Farbflüssigkeit, Alkohol, Alkohol absol., Oel, Balsam.) Einen anderen Unterguss für Anfertigung von Serienpräparaten empfehlen Born und Wieger.[2])

Zwei Volumina Quittenschleim werden mit einem Volumen reinen Glycerins vermischt und etwas Carbolsäure zugefügt.

Der in Seifenwasser gereinigte und dann getrocknete Objektträger wird mit der Klebemasse in dünner Schicht überzogen. Die Schnitte werden

[1]) Sollten sich die Paraffinschnitte etwas rollen, so bringt man den Objektträger in die Nähe einer Flamme, worauf sie sich wieder ausbreiten.

[2]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, 2. Bd. 1885.

aufgelegt, der Objektträger kommt in den Trockenschrank bei 30—40° C. 20 Minuten. Das Paraffin breitet sich aus, das Wasser verdunstet. Man löst das Paraffin in Terpentin oder Xylol, darauf kommt der Objektträger in absoluten Alkohol ($^1/_2$ Stunde). Durch den Alkohol wird der Schleim gefällt, welcher das Kleben ermöglicht, und das Terpentin und Glycerin ausgezogen.

Die Objektträger können nun gefärbt werden. Sie dürfen aber nicht sofort aus reinem Alkohol in eine wässerige Flüssigkeit übertragen werden.[1])

Altmann fixirt mittelst der Kapillarattraction die Paraffinschnitte auf dem Objektträger. Die sorgfältig gereinigten Objektträger werden mit destillirtem Wasser oder nicht zu starkem Spiritus bedeckt. Die paraffinisirten Schnitte werden auf der Wasser- resp. Alkoholschicht ausgebreitet, die überschüssige Flüssigkeit entfernt. Man lässt nun bei 35° im Thermostaten 24 Stunden das Wasser verdunsten, wodurch die Schnitte antrocknen. Eine Temperatur, bei der das Paraffin schmilzt, würde die Schnitte zum Schrumpfen bringen. Darauf werden sie auf einige Minuten bei einer höheren Temperatur, als der Schmelzpunkt des Paraffins ist, erwärmt und den verschiedenen Verfahren unterworfen. Eignet sich für einzelne Schnitte, aber nicht für Serien.

Eiweissglycerinmethode von Paul Mayer. Sie ist eine der sichersten und bequemsten Methoden zum Aufkleben sowohl für noch zu färbende wie schon gefärbte Paraffinpräparate. Frisches Hühnereiweiss wird zu Schnee geschlagen, mit der gleichen Menge Glycerin vermischt und filtrirt. Einige Kampherstückchen, der Lösung zugefügt, verhüten die Fäulniss.

Ein kleiner Tropfen der Eiweisslösung wird mit dem Glasstab auf den Objektträger gebracht und mit dem Finger soweit verrieben, dass das Glas noch klebrig bleibt. Man legt die Schnitte auf, drückt sie etwas an und bringt das Glas auf 10—15 Minuten in den Wärmeschrank oder das warme Wasserbad. Das Eiweiss gerinnt und hält die Schnitte fest. Das Paraffin wird dann entfernt. Bei sorgfältiger Verreibung des Eiweisses färbt sich dies bei Nachfärbung nicht. Alkalische Flüssigkeiten lösen das Eiweiss.

9. Kapitel.

Färben und Entfärben.

Allgemeines. Die Färbung lässt Elemente, die sonst auch bei sorgfältiger Untersuchung sich durch ihre zarten Contouren nicht oder nicht genügend zu erkennen geben, deutlich hervortreten, so dass die bei dem Färbungsverfahren aufgewendete Zeit sehr bald durch die erreichte Bequemlichkeit und Sicherheit der Untersuchung wieder eingebracht wird.

[1]) Der Quittenschleim löst sich wieder und damit auch die Präparate in ammoniakalischen Flüssigkeiten, ammoniakalischen Karmin und Boraxkarmin.

In vielen Fällen lässt das Färbungsverfahren allein in Gewebs- und Zellenbestandtheilen, die vorher vollkommen gleichförmig erschienen, Unterschiede erkennen. Manche Stoffe nehmen ohne weitere Vorbereitung als die der Reinigung, Farbstoffe aus einer Farblösung (Farbflotte) auf, mit der sie kürzere oder längere Zeit in Berührung waren und halten diese auch fest (substantive Färbung).

Bei anderen Stoffen dagegen wird durch eine gewisse Vorbereitung die Aufnahme der Farbstoffe resp. ein festeres Haften derselben ermöglicht. Für diese echte Färbung muss dem Farbstoff noch eine Beize zugefügt werden (adjective Färbung), wie Alaun, kohlensaures Ammoniak, kohlensaures Lithion, Kupfer- und Eisensalze. Die Beize, mit welcher der zu färbende Stoff durchtränkt ist, bildet mit dem Farbstoff eine unlösliche Verbindung, den Farblack.

Wir färben in der Histologie sowohl substantiv wie adjectiv.

Diffuse und differente (elective) Färbung (Kernfärbung). Unser Zweck, durch die Färbung Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der Gewebe hervortreten zu lassen, würde aber nur sehr unvollkommen oder gar nicht erreicht werden, wenn wir nur gleichmässig ohne jede Abstufung des Tons die Theile färben würden (diffuse Färbung). Wir erreichen damit nur, dass die Theile gegen ihre nicht gefärbte Umgebung sich besser abheben, aber über Unterschiede in der Zusammensetzung erfahren wir nichts. Für diesen Zweck müssen wir different (electiv) färben.

Wie Lilienfeld[1]) gezeigt hat, sind es die charakteristischen Substanzen des Kerns und des Zellleibes, die Nukleinstoffe resp. das Eiweiss, denen eine verschiedene Affinität zu Farbstoffen und damit auch das Vermögen, aus Farbstoffgemischen bestimmte Farbstoffe auszuwählen, zukommt. In der Regel wählen die Nukleine die basischen, die Eiweisskörper die saueren Farbstoffe aus. So z. B. nimmt Nukleinsäure grün an aus Gemischen von Methylgrün und Fuchsin, blau aus einem Gemisch von Methylenblau oder Eosin, roth aus Gemischen von Safranin und Lichtgrün, während das Eiweiss in den ersteren Gemischen sich roth, in dem letzteren grün färbt.

Gewisse Farben besitzen eine sehr starke Affinität zu den Kernen, reine Kernfarben, wie Hämatoxylin und Karmin, während andere, nämlich die basischen Anilinfarben:

Fuchsin,
Gentianaviolett,
Methylenblau,
Bismarckbraun,

nicht nur die Kerne (Safranin), sondern auch die Spaltpilze färben.

[1]) Deutsche med. Wochenschrift No. 16, 1893.

Anders verhalten sich die sauren Anilinfarben. Sie färben die Gewebe diffus: Eosin.

Die Resultate der Färbung können nur mit Anwendung des Abbeschen Condensors vollkommen ausgenützt werden.

Technik des Färbens. Vorbereitung. 1. Frische Präparate färben sich mit wenigen Ausnahmen nicht oder nicht gut, und zwar zum Theil deshalb, weil sie nicht die für distinkte Färbung nöthige Nachbehandlung gestatten. Will man frische Präparate färben, so geschieht dies mit Jodlösung (siehe Jod) oder Methylviolett in physiologischer Kochsalzlösung (siehe Methylviolett und Blut).

2. Fixirte und in Flüssigkeiten gehärtete wie eingebettete Präparate sind vor dem Färben von den Fixirungs- und Härtungsflüssigkeiten vollständig zu befreien, wenn nicht bei Alkoholpräparaten die Färbung in alkoholischer Farblösung geschieht.[1])

3. Um Verunreinigung der Präparate durch Niederschläge oder Pilze, welche in den Farblösungen sich gebildet haben, zu vermeiden, sind diese vor Anwendung zu filtriren.

Ein Stückchen Thymol oder Kampher, etwas Karbolsäure oder Sublimat zu der Farblösung gesetzt, hindern die Pilzbildung. Jede Farbflasche wird mit einem Glastrichter versehen, in welchem ein kleines Filter für die betreffende Farblösung sich befindet. Die Filter können mehrere Wochen benutzt werden.

4. Zur Erzielung einer gleichmässigen Durchfärbung der Schnitte müssen diese mit der Farblösung ausgiebig in Berührung kommen, so dass nicht nur ihre Oberfläche, sondern auch die tieferen Partieen den Farbstoff aufnehmen können. Die Schnitte dürfen darum weder einander noch dem Glase anliegen. Man wird deshalb nicht zu viel Schnitte gleichzeitig in einem zu kleinen Gefäss färben, sondern für eine hinreichende Menge Farbflüssigkeit sorgen, in der man die Schnitte mit der Nadel oder einem Pinsel öfter hin und her bewegt.

Die Farbflüssigkeit kann in den meisten Fällen nach jedesmaligem Gebrauche wieder filtrirt in die Flasche zurückgegossen werden.

5. Die zur Färbung nöthige Zeit ist sehr verschieden. Sie wird bestimmt durch das Färbevermögen der Präparate und der Flüssigkeit. Das Färbevermögen des Präparates ist zum Theil auch abhängig von dem Alter desselben und der Art der Conservirung. Präparate, welche zu lange in Alkohol oder in Chromosmiumverbindungen gelegen haben, nehmen den Farbstoff langsam oder schwierig an. Frische Farblösungen tingiren oft schwieriger, wie ältere. Die Farbstoffe müssen reifen und umgekehrt

[1]) Paraffin wird durch Xylol oder Toluol entfernt. Aufgeklebte Schnitte kommen auf 10—15 Minuten in Terpentinöl oder etwas kürzere Zeit in Xylol. Hierauf Uebertragen in 96procentigen Alkohol zur Entfernung des Xylols und Oels 5 Minuten. Hierauf in 80%, 70%, 50% Alkohol und dann etwa noch in Wasser. Hierauf Uebertragen in die Farblösung.

färben manche Farbstoffe nur gut, wenn sie frisch bereitet sind. Die für die Färbung genügende Zeit schwankt zwischen wenigen Minuten und 24 und mehr Stunden.

Die Färbung wird jedoch bei schwierig zu färbenden Objekten gefördert:

a) durch längere Einwirkung der Farbflüssigkeit bis 24 Stunden und darüber;
b) durch Verstärkung ihrer Concentration;
c) durch Erwärmen resp. durch längeres Färben bei Brutofentemperatur oder Kochen in der Farblösung. (Celloidinpräparate schrumpfen leicht beim Erwärmen);
d) durch Säuren und Alkalien, Anilinöl.

Die Haltbarkeit der Färbung ist zum Theil abhängig von der Farblösung, der Aufbewahrungsflüssigkeit und dem Licht. Beizen ermöglichen ein festeres Haften der Farbstoffe.

Färbung von Schnitten und ganzen Stücken. Die Schnittfärbung ist zeitraubender als die Durchfärbung eines Stückes und hat den Nachtheil, dass die einzelnen Schnitte bei den verschiedenen Manipulationen, die mit ihnen vorgenommen werden, mehr oder weniger leiden. Man vermeidet dies, indem man die Stücke vor dem Schneiden in toto färbt.

Die Durchfärbung ganzer Stücke findet erfolgreiche Anwendung in der normalen Histologie und Embryologie. Für pathologische Untersuchungen kommt sie schon darum weniger in Betracht, als für diese oft eine einzige Färbung nicht ausreicht, sondern ausser dem Gewebe auch noch andere Dinge, wie Bakterien, Producte der Gewebsentartung, die wieder besondere Methoden erheischen, durch Färbung dargestellt werden sollen. Durch die Celloidineinbettung, welche die Nachtheile, die mit Behandlung einzelner Schnitte verbunden sind (Zerbröckeln), vermeiden lässt, ist die Durchfärbung für viele Fälle überflüssig geworden.

Bei Durchfärbung ganzer Stücke sind folgende Regeln zu beachten:

1. Zur Durchfärbung dienen alkoholische Farbstofflösungen, Beal'sches Karmin, Hämatoxylin, Hämatoxylin-Eosin, Heidenhains Hämatoxylin.
2. Die gehärteten oder fixirten Stücke dürfen nicht gross sein, weil die Farblösung sonst schwer eindringt.
3. Die Färbung nimmt längere Zeit in Anspruch. Bei Stücken von 5 mm Seite 24 Stunden und darüber, bei grösseren Stücken mehrere Tage.
4. Die Präparate erfordern ein längeres Auswaschen, bis keine Farbe mehr abgegeben wird.
5. Die Präparate müssen in Alkohol von 96 % nachgehärtet werden.

Die Färbung wird nur in wenigen Fällen unter dem Deckglas auszuführen sein — bei frischen Präparaten, bei Untersuchung des frischen

Blutes. Bei Gewebsschnitten fällt die Färbung unter dem Deckglas zu ungleich aus. Es ist darum in den meisten Fällen die Färbung des Schnittes in Schalen vorzuziehen.

Doppel- und Mehrfachfärbung. Wir können für diesen Zweck entweder ein Gemisch von Farben anwenden (gleichzeitige Färbung), oder wir färben nacheinander mit den verschiedenen Farben. (Zeitlich getrennte Färbung), Vor- und Nachfärbung. Im ersten Falle nehmen die Gewebstheile nicht etwa die Mischfarbe der betreffenden Farbkörper an, sondern die einen färben sich mit der einen, die anderen mit der zweiten Farbe (electives Vermögen der Gewebstheile).

Das Gleiche ist der Fall, wenn wir die Farben getrennt nacheinander wirken lassen. Hier werden dann nur die Theile mit der zweiten Farbe gefärbt, welche gegen die erste sich ablehnend verhalten haben.

Bei der zeitlich getrennten Färbung wird zuerst die Kernfärbung vorgenommen, dann ausgewaschen; es folgt dann die zweite Färbung, hierauf Auswaschen, Alkohol etc.

Zu diesen Doppelfärbungen benutzen wir in der Regel eine Kernfarbe zur Färbung des Kernchromatins und eine andere für das Plasma und die Grundsubstanz.

Die Anwendung mehrerer Kernfarben ermöglicht dann innerhalb des Kerns die Gerüste und Kernkörperchen verschieden zu färben oder verschiedene Kerne durch differente Färbung besonders hervorzuheben.

Nachbehandlung (Entfärben, Differenziren). Das der Farblösung entnommene Präparat zeigt aber noch nichts von der distincten Färbung, diese ist vielmehr eine ganz gleichmässige.

Die ungleiche oder isolirte Färbung erzielen wir erst durch die partielle Entfärbung. Sie findet ihre Erklärung in dem verschiedenen Widerstand, welchen die einzelnen Theile den Farbstoff entziehenden Flüssigkeiten entgegensetzen — mit anderen Worten in der starken Affinität derselben zu den Farbstoffen.

Während ein Theil den Farbstoff leicht abgiebt, hält ihn der andere hartnäckig fest. So erhalten wir jetzt an Stelle des gleichmässig gefärbten Präparates nach Entziehung eines Theils des Farbstoffs ein distinct gefärbtes — die diffuse Färbung ist zu einer differenten geworden (Kernfärbung).

Zwischen diesen beiden Extremen finden sich aber verschiedene Abstufungen, indem die Grundsubstanz meist zuerst ihre Farbe abgiebt, dann das Zellprotoplasma, hierauf der Kern und endlich auch dieser, bis nur noch die vorhandenen Bakterien gefärbt erscheinen (reine Bakterienfärbung).

Zur Entfärbung dient Brunnen- und destillirtes Wasser, angesäuertes Wasser, Akohol, Jod etc. (Gram'sche Färbung.) Siehe die einzelnen Färbemethoden.

Die Manipulationen bei der Färbung und weiteren Behandlung der gefärbten Schnitte sind

1. Auswaschen des fixirten oder gehärteten Schnittes (bei Färbung in Alkohol gehärteter Präparate in alkoholischen Farblösungen überflüssig);
2. Färben;
3. Auswaschen (gewöhnlich in destillirtem Wasser), Entfärben;
4. Uebertragen auf dem Spatel in 96procentigen Alkohol (3 bis 8 Minuten);
5. Uebertragen auf dem Spatel in Alkohol absol. (3—8 Minuten);
6. Uebertragen in ätherisches Oel;
7. Ausbreiten auf dem Objektträger;
8. Absaugen des überschüssigen Oels;
9. Canadabalsam, Bedecken mit Deckglas.

Bei Glycerineinschluss geschieht die Uebertragung nach 3.

Farbstoffe, a) Substantive Färbungen.

1. Einfache Färbung.

Jod.

Jod wird gewöhnlich in der Form der Lugol'schen Lösung benutzt; das Jod, in destillirtem Wasser unlöslich, löst sich in einer Jodkaliumlösung:

Jod. pur.	1,0
Kal. jod.	2,0
Aq. destill.	50,0

diese Lösung kann nach Bedarf beliebig verdünnt werden.

Die Jodfärbungen lassen sich in Wasser und Glycerin nur schwer und nicht lange conserviren; das Jod ist immer nur locker mit den organischen Substanzen verbunden und verdunstet allmählich, wobei dann die Färbung erlischt. Selbst bei sorgfältiger Verkittung der Präparate pflegt die Färbung spätestens nach einigen Jahren verloren zu gehen. In Canadabalsam sind sie gar nicht zu conserviren, da die Jodfärbung durch den Alkohol sofort extrahirt wird. Dagegen bleibt sie in Präparaten, welche in dicker Gummilösung liegen, gut erhalten.

Die Jodlösung färbt sowohl die eiweissartigen Substanzen wie die leimgebenden und colloiden leicht gelb; die Färbung der Zellen ist meist stärker als die der Zwischensubstanz und die der Kerne etwas stärker als die des Protoplasmas. Man kann demnach durch eine sehr schnelle und bequeme Färbung an frischen Schnitten die zelligen Elemente hervorheben. z. B. die Zellstränge in Carcinomen etc.

Die rothen Blutkörper werden durch die Jodfärbung dunkelbraun.

Besonderen Werth hat die Jodfärbung für den Nachweis von:

Glycogen,
Corpora amylacea und amyloidea,
Amyloid.

Siehe Degeneration.

Karmin.

1. **Ammoniakalischer Karmin.** Nach dem Verfahren von Gerlach wird der Karmin in Ammoniak gelöst und durch Verdunsten des überschüssigen Ammoniaks neutralisirt.

Feinst pulverisirter Karmin 1 Theil wird in 50—100 Theilen destillirtem Wasser durch Zusatz einiger Tropfen oder 1 Theil Ammoniak gelöst. Die Mischung bleibt 24 Stunden offen stehen, bis der Ammoniakgeruch verschwunden ist und wird dann filtrirt. Sie ist jetzt aber noch nicht brauchbar, sie muss erst reifen, was oft erst nach längerer Zeit, 2 Jahren, vollendet ist. Man gebraucht den Karmin als Lösung von Rosafarbe. Dauer der Färbung verschieden, bis 24 Stunden und darüber.

Je weniger freies Ammoniak die Lösung enthält, desto schonender wirkt sie auf die Gewebe; die Lösung muss indessen oft erneuert werden, da sie durch Schimmelbildung etc. leicht verdirbt.

Das karminsaure Ammoniak färbt eine grosse Zahl der im Thierkörper vorkommenden Substanzen, und zwar sehr rasch schon in starker Verdünnung, die Färbung ist echt, d. h. beständig, besonders, wenn der Schnitt nach dem sorgfältigen Auswaschen in eine dünne Essigsäure (behufs Fixation) gebracht worden ist. War die Auswaschung nicht vollständig, so wird das Präparat durch den in der Säure eintretenden körnigen Karminniederschlag verdorben.

Gefärbt werden: das Protoplasma und die Kerne fast aller Zellen, die fibrilläre Grundsubstanz des Bindegewebes, die quergestreiften und glatten Muskelfasern, die Grundsubstanz des osteoiden Gewebes und des entkalkten Knochens, das Fibrin, die Glia des Centralnervensystems, die Axencylinder der Nerven, die meisten kolloiden Substanzen etc. Ungefärbt bleiben hauptsächlich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, das elastische Gewebe, die Hornsubstanz, die Markscheiden der Nerven, das Fett, die Schleimsubstanz, der verkalkte Knochen etc.

Im Gebrauch ist das Karmin-Ammoniak hauptsächlich für Untersuchungen des Nervensystems, zur Darstellung der Axencylinder.

Ausserdem wird das Karmin-Ammoniak meist nur noch für Untersuchung des Knochensystems verwendet, auch hier eignet sich eine Doppelfärbung (mit Hämatoxylin) sehr gut. Besonders bei Untersuchung der Rhachitis und Osteomalacie, welche am besten an frischen oder con-

servirten Präparaten, d. h. ohne künstliche Entkalkung, vorgenommen wird, ist die Hervorhebung des osteoiden Gewebes durch das Karmin-Ammoniak von wesentlichem Werth.

Karmin ist der Farbstoff der Cochenille, einer auf Cacteen lebenden Schildlaus. Man verwende nur die beste Marke, das Karmin Nakarete. Dieser Farbstoff ist nicht einfache Karminsäure, sondern nach Liebermann eine Thonerdekalkproteinverbindung des Karminfarbstoffs. Die Bereitungsweise des Karmins scheint sich in den letzten Jahren geändert zu haben, wenigstens klagen in der Karminfärbung bewanderte Forscher darüber, dass der Karmin für mikroskopische Zwecke nicht mehr das leistet, wie früher.

2. **Beales Karmin.** Karmin 0,6, Liq. Ammon. caust. 3,75 werden einige Minuten gekocht und hierauf zugesetzt: Glycerin 60,0, Aq. destill. 60,0, Alkohol 15,0.

Vorzugsweise für Färbung ganzer Stücke, welche, nachdem sie je nach ihrer Grösse 2—8 Tage in der Lösung verweilt, nach Auswaschen in Wasser in Alkohol nachgehärtet werden.

3. **Essigsaurer Karmin.** Die ammoniakalische Lösung wird durch Essigsäure neutralisirt, indem man tropfenweise Eisessig (1 Theil, 2 Theile Wasser) langsam zusetzt, bis die kirschrothe Farbe in eine hellrothe übergeht. Färbung 24 Stunden. Bei Ueberfärbung, d. h. wenn ausser den Kernen auch die anderen Theile gefärbt sind, entfärbt man durch $^1/_2$procentige Salzsäure in 70procentigem Alkohol.

4. **Salzsaurer Karmin (Paul Mayer).** Karmin 4 gr werden in Ammonii 15 gr Aq. destill. und 30 Tropfen Salzsäure durch Kochen gelöst. Nach dem Erkalten werden 95 ccm 96procentiger Alkohol zugefügt, filtrirt und mit Liquor Ammonii caust. vorsichtig neutralisirt. Färbung 24 Stunden. Für eine Kerntinktion kommt das Objekt in salzsauren Alkohol (1 Theil Salzsäure auf 1000 Alkohol von 96 %), der so lange gewechselt wird, bis kein Farbstoff mehr ausgezogen wird. Soll das Plasma gefärbt bleiben, wird mit neutralem 96procentigen Alkohol so lange gewaschen, bis er sich nicht mehr färbt. Eignet sich weniger für Schnittpräparate, als für ganze Stücke.

5. **Wässeriger Alaun-Karmin (Grenacher).** 2—5 gr Karmin werden mit 100 gr einer 5procentigen Alaunlösung $^1/_2$—1 Stunde gekocht und nach dem Erkalten filtrirt, oder 1 gr Karmin wird mit 2—3 gr gepulverten Alauns in einer Reibschale verrieben und in 100 ccm Wasser 12 Minuten gekocht und nach dem Erkalten filtrirt.

Färbung: 6 Minuten bis $^1/_2$ Stunde, Auswaschen in Wasser, Alkohol. Oel, Kanada.

Eine Ueberfärbung tritt auch bei längerer Färbung nicht ein. Die Kerne erscheinen schön violettroth. Schwer färbbare Objekte sind nicht für diese Färbung geeignet. Feines Detail tritt nicht so scharf hervor. wie bei Hämatoxylinfärbung.

Die Farbe ist nicht sehr dauerhaft. Die Lösung schimmelt leicht, deshalb muss öfters filtrirt oder etwas Karbolsäure zugefügt werden. Für Stückfärbung.

6. **Alkoholischer Alaun-Karmin.** Zu 4 Volumen des Grenacher'schen Alaun-Karmins kommt 1 Volumen 96procentigen Alkohol, um die Schimmelbildung zu verhüten. Wenn kein Karmin und Alaun nach Alkoholzusatz ausfällt, wird filtrirt. Anwendung dieselbe wie mit Grenachers Karmin.

7. **Wässeriger Borax-Karmin.** Karmin 0,5 gr, Borax 1 gr werden in einem Mörser verrieben und hierzu 150 ccm Aq. destill. gegeben. Nach 24 Stunden wird decantirt und filtrirt.

Stückfärbung in 24 Stunden, Differenzirung in Salzsäure (1 Theil Salzsäure 70 % Alkohol 100) 24 Stunden, dann Alkohol von 96 %.

8. **Alkoholischer Borax-Karmin.** Karmin 2—3 gr, Borax 4 gr, Wasser 100 gr werden gekocht und nach Erkalten 100 ccm Alkohol von 96 % zugefügt und filtrirt.

Färbung 1—3 Tage. Hierauf Uebertragung in salzsauren Alkohol (1 pro 1000) von 96 %, bis kein Farbstoff mehr übergeht. Hierauf neutraler Alkohol. Für Durchfärbung. Gute Kern-schwache Plasmafärbung.

9. **Wässeriger Borax-Karmin mit Essigsäure.** Karmin 1 gr werden mit Borax 2 gr verrieben und in 100 cm destill. Wasser gekocht. Der etwas abgekühlten, aber noch warmen, tief blaurothen Farbe wird jetzt (circa 10—15 cm) einer Lösung von Acidum acetic. glac. 10 : 100 mit Pipette zugesetzt, bis die Flüssigkeit hellroth und transparent ist. Nach einem Tage wird filtrirt und etwas Thymol in Krystallen zugegeben.

Die Lösung färbt Schnitte und ganze Stücke (von 0,5 cm Seite), letztere in 2—4 Tagen bei Zimmertemperatur, mögen sie in Alkohol, Sublimat oder Chromsalzen fixirt oder gehärtet sein.

Die ganzen Stücke werden, wenn sie gleichmässig durchgefärbt sind, in destill. Wasser abgespült und mit saurem Alkohol (1 Theil Salzsäure, 96procentiger Alkohol 1000 Theile) differenzirt, bis sie keine oder wenig Farbe mehr in dem alle halbe Stunden zu wechselnden Säurealkohol abgeben, was gewöhnlich in 1—4 Stunden eintritt.

Darauf kommt das Präparat in absol. Alkohol mit Pikrinsäure, worauf es nach 12 Stunden einen leichten Orangeton angenommen hat und eingeschlossen werden kann.

Gute Kern-schwache Plasmafärbung.

10. **Alaun-Borax-Karmin mit essigsaurer Thonerde (Haug).** 1 gr Karmin wird mit 1 gr Borax verrieben und mit Liquor Alum. acetic. $^1/_2$ Stunde oder länger gekocht. Nach 24 Stunden Decantiren, Filtriren. Ist erst nach Wochen brauchbar. Auswaschen in Wasser.

Färbt langsam, aber schärfer und heller als Alaun-Karmin und ist dauerhafter. Eignet sich auch für Stückfärbung.

11. **Lithion-Karmin.** Karmin 2,5—5,0 gr, gesättigte wässerige Lösung von Lithion carbonic. 100,0 gr. Zur Differenzirung Auswaschen in salzsäurehaltigem Alkohol (Salzsäure 1 Theil auf 70procentigen Alkohol 100 Theile), Auswaschen in grösserer Menge destillirten Wassers, Alkohol — Oel — Kanadabalsam. Der Kern wird intensiv roth. Ueberfärbung tritt nicht leicht ein und kann durch längeres Auswaschen in salzsäurehaltigem Alkohol beseitigt werden.

Für schwer färbbare Präparate ist die stärkere 5procentige Karminlösung vorzuziehen. Bei Schnitten, die mit Eiweiss aufgeklebt sind, ist diese Lösung zu vermeiden, da sie dieses löst.

12. **Ammoniak-Lithion-Karmin mit Ammonium chloratum**[1] **(Haug).** Karmin 1 gr, Ammoniumchlorat 2 gr werden verrieben und in Aq. destill. 100 cc gekocht.

Zu der trüben Lösung wird beim Erkalten tropfenweise gegeben Liquor Ammonii caust. 15—22 cc, Lithion carbonic. pur. 0,3—0,5 cc.

Sobald der Niederschlag sich gelöst, die Farbe hellroth geworden ist, wird filtrirt.

Färbung 1—3 Minuten; Differenziren in Salzsäurealkohol; Absol. (Pikrin) Alkohol.

Färbt Schnitte sofort intensiv .erdbeerroth. Dauerhafte Tinktion, auch für schwere tingible Präparate brauchbar.[2])

13. **Cochenille Alaun (Partsch und Czokor).** Feinste Cochenille, die Muttersubstanz des Karmins 1 Theil, Alaun 1 Theil, Aq. destill. 100 Theile werden erwärmt und bis auf die Hälfte des Volumens eingekocht, eine Spur Phenol zugegeben und filtrirt.

Färben 24 Stunden für das Centralnervensystem.

Wirkt ähnlich wie Karminalaun. Für Schnitte und Stücke. Gute Kern-, leichte Plasmafärbung. Kerne und Axencylinder färben sich in Schnitten des Centralnervensystems nach Härtung in chromsauren Salzen, und zwar zeigen die Kerne einen mehr violetten Farbenton als die Axencylinder. Einige Thymolkrystalle der Lösung zugesetzt, verhüten die Schimmelbildung.

14. **Uran-Karmin (Schmaus).** Karminsaures Natron 1 gr wird mit Uranum nitric. 0,5 gr verrieben, $^1/_2$ Stunde in 100 ccm Wasser gekocht und nach dem Erkalten filtrirt. Färbung in 15—20 Minuten bis 24 Stunden. Für Rückenmark, das in Müller'scher Flüssigkeit conservirt und ohne auszuwaschen in Alkohol gehärtet wurde, besonders für Axencylinder.

Zur Doppelfärbung mit Hämatoxylin auch für andere Objekte geeignet.

[1]) Zeitschrift für Mikroskopie. Bd. VIII, S. 52. 1891.

[2]) In Chromosmiumessiggemisch oder in Hermanns Flüssigkeit fixirte Präparate färben sich nur ungenügend in obiger Lösung.

15. **Karm-Alaun (Paul Mayer).** Die färbende Substanz des Karmins, die Karminsäure 1 gr und 10 gr Alaun werden durch Erwärmen in 200 ccm Aq. dest. gelöst. Nach dem Erkalten wird abgegossen und filtrirt. Einige Thymolkrystalle verhüten die Schimmelbildung. Für Schnitte.

16. **Para-Karmin (Paul Mayer).** Karminsäure 1 gr, Chloraluminium $^1/_2$ gr, Chlorcalcium 4 gr, Spiritus 70 % 100 ccm werden kalt oder warm gelöst und nach dem Absetzen filtrirt. Die Schnitte und Stücke können, ohne ins Wasser zu kommen, gleich in Alkohol von 70 % ausgewaschen werden. Färbt rasch und besonders Kerne. Bei Ueberfärbung Auswaschen in einer Lösung von $^1/_2$ % Chloraluminium in 70procentigem Spiritus event. in 70procentigem Spiritus mit 2,5 % Eisessig.

Hämatoxylin.

Die Hämatoxylinfärbung gehört zu den sichersten und besten Methoden, um Kerne intensiv und das Protoplasma leicht blau zu färben. Auch das Mucin färbt der Farbstoff schön blau. Die Farbe ist sehr haltbar und eignet sich für die verschiedensten Gewebe, wenn die Präparate vor Licht geschützt werden. Vor dem Einschluss ist sorgfältig zu neutralisiren um Entfärbung zu vermeiden. Aus demselben Grunde ist auch Bergamottöl dem meist sauren Nelkenöl vorzuziehen. Der Farbstoff wird in gelben Krystallen aus dem Blau- oder Campecheholz (Hämatoxylon campechianum) gewonnen und findet besondere Verwendung mit verschiedenen Beizen, wie Alaun, chromsaure- und Metallsalze.

Die Krystalle des Hämatoxylin lösen sich sehr leicht in Alkohol zu einer bräunlichen Tinctur; giebt man eine kleine Menge dieser Tinctur zu einer wässrigen Alaunlösung, so erhält man in wenigen Minuten eine bläulich gefärbte Flüssigkeit.

Die volle Färbekraft gewinnt das Hämatoxylin erst mit der Zeit unter der Einwirkung des Sauerstoffes der Luft, wodurch die frisch bereitete röthliche Verbindung in die blaue Hämateïnlösung sich umwandelt. Zu gleicher Zeit, oder bald danach, beginnt dann auch eine körnige Ausscheidung des Farbstoffs, wodurch die Präparate verunreinigt werden. Die Lösung muss demnach vor dem Gebrauch filtrirt werden. Ist die Lösung älter, „gereift“, färbt sie schon in einer Minute. Um Ueberfärbung zu vermeiden, empfiehlt es sich, nach einigem Warten die Lösung mit Alaunwasser zu verdünnen und von Zeit zu Zeit die Färbung zu controliren.

Nach sorgfältigem Auswaschen bleiben die Schnitte noch mehrere Stunden im Wasser. Bei längerem Aufenthalt im Wasser wird die Farbe unter der Einwirkung der Luft intensiver. Sind die Schnitte zu dunkel gefärbt, was bei gut gereiften alten Lösungen leicht geschieht, so kann man sie zum Theil wieder entfärben, indem man sie für kurze Zeit in

verdünnte Essigsäure bringt und dann in Wasser abspült, oder indem man sie in 1procentige wässrige Alaunlösung auf 1—2 Stunden legt und darauf mehrere Stunden in Wasser abspült.[1])

Die Hämatoxylinlösung hält sich über $^1/_2$ Jahr.

Unna[2]) hat die Umwandlung (Reifung) des röthlichen Farbstoffes in das blaue Hämateïn beschleunigt und so eine momentan gereifte und eine constante halbreife Lösung des Hämatoxylins hergestellt.

P. Mayer[3]) benützt an Stelle des Hämatoxylins das als Oxydationsproduct gewonnene Hämateïn in Verbindung mit Ammoniak, das fast die gleiche Färbekraft besitzt wie das reine Hämateïn und sofort verwendbar ist.

Die mit Hämatoxylin gefärbten Präparate werden in Glycerin allmählich entfärbt. Man conservirt sie darum am besten in Canadabalsam.

1. **Böhmer's Hämatoxylin.** Krystallisirtes Hämatoxylin (1 gr) wird in absolutem Alkohol (10 ccm) gelöst. Man erhält so eine concentrirte Lösung, in der sich noch Krystalle im Ueberschuss befinden. Alaun (1 gr) wird in 100 ccm warmen, destillirten Wassers gelöst und nach dem Erkalten filtrirt. Nach einigen Stunden werden so viel Tropfen Hämatoxylinlösung zu dem Alaunwasser gegossen bis die Flüssigkeit hellviolett ist. Die Mischung bleibt in weit offenen Gefässen mehrere Tage (eine Woche) stehen. Darauf wird filtrirt.

Besonders für Präparate, die in Alkohol, Sublimat, Pikrinsäure oder Salpetersäure conservirt wurden, weniger für die in chromsauren Salzen oder Verbindungen der Osmiumsäure conservirten. Gute Kernfärbung.

Färben 1—3 und mehr Minuten; sorgfältiges Auswaschen in reichlichem destillirtem Wasser; Stehenlassen, 12—24 Stunden in destillirtem Wasser; Alkohol, Oel, Canada.

Zu Doppelfärbung eignet sich besonders Eosin und Pikrinsäure. Da diese leicht entfärbt, müssen die Präparate mit Hämatoxylin überfärbt sein.

2. **Friedländer's Hämatoxylin.** Hämatoxylin 2,0, Alkohol 100,0. Aq. destill. 100,0, Glycerin 100,0, Alaun 2,0.

Um Ueberfärbung zu vermeiden, kann etwas Essigsäure zugesetzt werden. Schnitte färben sich in der braunen Lösung braun, werden aber nach Auswaschen in destillirtem Wasser blau. Eignet sich auch für Stückfärbung.

---

[1]) Zu lange Zeit in Müller'scher Flüssigkeit conservirte Präparate färben sich oft schwer in Hämatoxylin. Bringt man jedoch die Schnitte einige Zeit in Wasser, dem einige Tropfen Kalilauge zugesetzt sind, so färben sie sich dann sehr schnell und intensiv. Eine sehr gute Farbflüssigkeit liefern die zur Filtration von Hämatoxylin längere Zeit benutzten Filter. Man übergiesst sie mit reinem Wasser, filtrirt nach mehrstündigem Stehen den Auszug, dampft etwas ein und giebt Glycerin und Alkohol zu.

[2]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII. 1892.

[3]) Mittheilungen der zoolog. Station in Neapel. Bd. X. p. 170. 1891.

3. **Ehrlich's saures Hämatoxylin.** Hämatoxylin-Lösungen zersetzen sich unter Bildung eines blauen Niederschlags, der durch Dissociation des Alauns in basische, lackbildende Thonerde-Verbindung und freie $H_2 SO_4$ bedingt ist. Durch Zusatz von Säuren hat Ehrlich die Ausscheidung basischer Lackverbindungen verhütet.

Hämatoxylin 2,0, Alkohol absol. 60,0.

Der Lösung wird zugefügt

Glycerin	60,0	mit Alaun gesättigt.
destillirtes Wasser	60,0	
Eisessig	3,0	

Färben 3—5 Minuten, auch bei Alkohol-Bichromathärtung ohne Ueberfärbung; Auswaschen in Wasser; Alkohol, Oel, Canada.

Das Gemisch reift am Lichte längere Zeit, bis es eine gesättigt rothe Farbe angenommen hat. Sobald dies erreicht ist, (nach 2—3 Wochen) wird filtrirt. Das Färbungsvermögen bleibt constant (durch Jahre). Ist für genügenden Schluss des Gefässes gesorgt, so treten Niederschläge nie auf. Zur Doppelfärbung können freie Farbsäuren (z. B. Eosin) oder Farbbase zugesetzt werden.

Für Bluttrockenpräparate verwendet Ehrlich das saure Hämatoxylin-Eosingemisch, welches die Leukocythenkerne violett, die Blutscheiben roth färbt. (Siehe Blut.)

Das Gemisch eignet sich auch zur Durchfärbung ganzer Stücke.

Nach Auswaschen in destillirtem Wasser färbt sich der Schnitt bald intensiv blau. Die Kerne sind dann fast isolirt gefärbt, ebenso die (meisten) Schizomyceten. Bei Mitfärbung anderer Gewebselemente Entfärbung mit salzsäurehaltigem Alkohol, welcher die Kernfärbung nicht schädigt. Für viele Zwecke ist ausserdem noch eine Färbung der protoplasmatischen Substanz wünschenswerth, die durch nachträgliche Färbung mit Pikrinsäure (gesättigte Lösung) oder mit Eosin erreicht wird. (Siehe Eosin.)

4. **Hämatoxylin von Delafield.** Gesättigte wässerige Lösung von Ammoniakalaun 400 ccm, krystallisirtes Hämatoxylin 4 gr, Alkohol 25 ccm.

In offener Flasche dem Licht ausgesetzt, vertieft sich die Farbe, und es entsteht ein leichter Niederschlag. Nach 3—4 Tagen wird filtrirt, 100 ccm Glycerin und ebensoviel Methylalkohol zugegeben. Die Lösung bleibt stehen, bis die Farbe genügend dunkel ist, wird wieder filtrirt, in einer fest verschlossenen Flasche aufbewahrt und zum Gebrauch nach Bedarf mit Wasser verdünnt.

5. **Hämatoxylin Hansen.** Lösung A. Krystallisirtes Hämatoxylin 1 gr gelöst in Alkohol absol. 10 ccm wird in geschlossener Flasche aufbewahrt.

Lösung B. Kalialaun 20 gr in destillirtem Wasser 200 ccm in der Wärme gelöst und nach Erkalten filtrirt.

Lösung C. Uebermangansaures Kali in 16 ccm destillirtem Wasser bei Zimmertemperatur gelöst. Nach 24 Stunden werden Lösung A und B in eine Porzellanschale gegossen, mit 3 ccm der Lösung C vermischt und unter Umrühren 1 Minute zum Sieden erhitzt. Dann rasches Abkühlen der Schale in kaltem Wasser. Nach dem Erkalten wird filtrirt. Färbt rasch.

6. **Glycerinalaunhämtoxylin (Rawitz).** Hämatoxylin 1 gr, Gepulverter Alaun 1 gr. Aqua destill 65 ccm. Glycerin 35 ccm. Man schüttelt sorgfältig. Nach 14 Tagen ist die Lösung fertig. Die Lösung färbt etwas langsamer als die Böhmer'sche, der Ton ist aber leuchtender. Färbungsdauer bis 8 Minuten. Für Schnitte.

7. **Hämalaun (P. Mayer).**[1]) Man löst durch Erwärmen Hämateïn oder Hämateïnammoniak[2]) 1 gr in 90procentigem Alkohol 50,0 gr, fügt dann zu Alaun 50 gr und Aq. destill. 1000 gr.

Man lässt erkalten, filtrirt eventuell. Die Flüssigkeit kann mit der zwanzigfachen Menge Wasser oder dünner Alaunlösung verdünnt werden. Pilzbildung wird durch Zusatz eines Tymolkrystalls verhütet.

Die Flüssigkeit färbt rasch wie altes Böhmer'sches Hämatoxylin, ohne jedoch zu überfärben und färbt auch grössere Stücke in 24 Stunden durch. Sorgfältiges Auswaschen in 1% Alaunlösung; Auswaschen in Wasser 10—15 Minuten; Alkohol; Oel, Kanadabalsam.

8. **Saurer Hämalaun** wird gewonnen, wenn man zu obiger Flüssigkeit 2% Eisessig hinzufügt.

Dieser sauere Hämalaun färbt wohl noch präciser als der alkalische. Zur Entfernung der Säure dient Auswaschen in gewöhnlichem Wasser.

9. **Glycerinalaunhämateïn (Rawitz).** Hämateïn 0,5 gr werden in Aq. destill. 100 ccm unter Erwärmen gelöst und in die noch warme Flüssigkeit Aluminiumammoniumsulfat (Kahlbaum) gegeben. Filtriren ist unnöthig. Für Schnittfärbung. Färbungsdauer 5 Minuten und mehr, bis die gewünschte Intensität erreicht ist. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.

---

[1]) Mittheilungen der zoolog. Station von Neapel. Bd. X, 1891, p. 170—186. Zeitschrift f. wisssenschaftl. Mikroskopie. Bd. VIII., S. 337, 1891.

[2]) Darstellung des Hämateinammoniaks:

Hämatoxylin 1 gr
Destill. Wasser 20 cc

werden erwärmt, eventuell filtrirt und caustisches Ammoniak (von 0,875 spec. Gewicht) 1 cc zugegeben. Die purpurrothe Flüssigkeit kommt in eine grössere Schale zum Abdunsten.

Bei der Darstellung sind nur Spatel von Glas, Porzellan oder Platin zu verwenden.

Hämateïn ist von J. R. Geigy & Comp. in Basel und Grübler in Leipzig zu beziehen.

Anilinfarben.

Wir unterscheiden die basischen Anilinfarben, welche Kerne und Bakterien färben,

Fuchsin,
Safranin,
Bismarckbraun,
Gentianaviolett,
Methylenblau,
Methylgrün,

und die sauren, welche diffus färben,

Pikrinsäure,
Eosin.

Allgemeines. Man hält sich alkoholische Lösungen, die man für den Gebrauch mit destillirtem Wasser etwa auf das Doppelte bis Zehnfache verdünnt. Vor dem Gebrauch wird die Lösung filtrirt.

Bei Anwendung der Anilinfarben wird maximal überfärbt und maximal entfärbt, d. h. soviel Farbstoff aus den gefärbten Theilen ausgezogen, als sich entfernen lässt.

1. **Fuchsin** (Syn. Diamantfuchsin, Anilinroth, Rubin, Magenta). Färbung der Schnitte 24 Stunden. Entfärbung in öfters zu wechselndem Alkohol von 96 % bis keine Farbwolken mehr auftreten. Alkohol absol., Oel, Canada.

Färbt das Kernchromatin, Mucin und Bakterien intensiv, das Plasma und die Knorpelgrundsubstanz leicht.

Für ausschliessliche Kernfärbung werden einige Tropfen der Stammlösung mit viel destillirtem Wasser verdünnt. Hierauf Uebertragen in 96procentigen Alkohol, in welchem die Präparate längere Zeit bleiben.

Die mit Fuchsin beschmutzten Gläser werden in starker Salpetersäure gereinigt. welche das Fuchsin entfärbt.

2. **Fuchsin nach Nissl.** Färbung der Schnitte in erhitzter, gesättigter, wässriger Fuchsinlösung bis Dampfbildung erfolgt, Auswaschen in Alkohol, Differenzirung in Nelkenöl.

3. **Fuchsinessigsäure.** Zu 2procentiger Essigsäure wird soviel Fuchsin in Substanz gegeben, dass die Farbe eine gesättigt rothe wird.

Zur Darstellung und Färbung der Kerne und Bakterien.

4. **Säurefuchsin** (Syn. Fuchsin S, Rubin S, Säurerubin). Ist nicht identisch mit Fuchsin (siehe oben) und wird in concentrirter wässriger Lösung oder in Anilinwasser[1]) gelöst (20 gr Säurefuchsin, 100 ccm Anilinwasser). Färbung in der Kälte oder Wärme. (Für Kerngranula und Nervenfasern. Siehe Centralnervensystem und Säurefuchsinlösung nach Weigert.)

[1]) Einige Tropfen Anilinöl werden mit Wasser im Reagenzglas geschüttelt und dann durch feuchtes Filter filtrirt.

5. **Safranin.** (Synon. Fuchsia, Giroflé, Rosalan.) Man verdünnt einen Theil der gesättigten alkoholischen Lösung zum Gebrauch auf das Doppelte des Volumens mit destillirtem Wasser oder benutzt eine 1procentige wässrige Lösung.

Schnittfärbung einige bis 24 Stunden. Kurzes Abspülen in Wasser. Auswaschen in Alkohol absol., der durch $^1/_2$procentige Salzsäure leicht angesäuert ist (circa 5 Tropfen Salzsäure auf eine mittelgrosse Schale). Auswaschen in Alkohol absol., bis die Schnitte je nach ihrer Dicke und ihrem Bau rosa bis hellroth erscheinen. Oel (Nelkenöl), Canada oder nach Alkohol, Xylol-Canada.

Für Kernfiguren, insbesondere für Präparate, die in Flemmings oder anderen Chromosmiumgemischen fixirt wurden, vorsichtige Entfärbung in salzsäurehaltigem Alkohol.

6. **Safranin-Anilin-Oel** nach Babes. Safraninpulver im Ueberschuss, 2 gr, Anilinöl 3 ccm, 100 Theile Wasser. Das Gemisch wird auf 60—80° erwärmt und durch ein feuchtes Filter geschickt. Die Lösung ist 2 Monate haltbar und färbt Schnitte momentan.

Auswaschen in Wasser, eventuell in sehr schwach mit Salzsäure angesäuertem Alkohol, Nelkenöl, Canada.

Für Kernfiguren.

7. **Gentianaviolett BR.** (Syn. Benzylviolett, Pariser Violett 6 B. Methylviolett 6 B., 6 B extra, Methylviolett B extra, Violett 5 B., Violett 6 B., Pyoktanin.) 1procentige wässrige oder 1—2procentige alkoholische Lösung. 1. Färben 3 bis 5 Minuten bis 24 Stunden. 2. Rasches Abspülen (etwa $^1/_2$ Minute) in leicht mit Essigsäure ($^1/_2$ %) angesäuertem Wasser. 3. Auswaschen in Alkohol, bis der Schnitt hellblau geworden ist. 4. Absoluter Alkohol, Xylol, Canadabalsam.

Gentianaviolett ist sehr widerstandsfähig gegen Alkohol.

8. **Gentianaviolett (Ehrlich).** Gentianaviolett 1 gr, Alkohol 15 ccm, Anilinöl 2 ccm, Aq. destill. 15 ccm. Färbung der Schnitte 5 bis 15 Minuten bis 24 Stunden. Weitere Behandlung nach Gram. (S. Gram'sche Färbung.) Die Lösung ist nicht sehr haltbar.

9. **Methylviolett R bis 5 R,** (Hofmanns Violett, Dahlia- Primula, Jodviolett). Gesättigte Lösung in Alkohol absol. 50 ccm, Aq. destill. 100 ccm, Acetum glac. $12^1/_2$ ccm (Ehrlich). Nur für Alkoholfixirung. Schnitte werden 12 Stunden gefärbt. Einlegen in Terpentin. Für Untersuchung der Mastzellen.

10. **Methylenblau** (Aethylenblau, Phenylenblau). Darstellung und Anwendung wie die des Methylviolett. Für Bakterienfärbung. Siehe diese.

11. **Bismarckbraun.** (Syn. Vesuvin, Phenylenbraun, Manchesterbr. Anilinbr., Neutralbr., Lederbr., Goldbr., Zimmtbr., Englischbr., Canelle.) Für schwer färbbare Präparate heiss gesättigte filtrirte oder durch Kochen bereitete Lösung von 3—4 %, für leicht färbbare Präparate wässrige Lösung

von 1 %. Gekochte Lösung färbt rascher und intensiver. Als Stammlösung 40procentiger Alkohol mit 2—2½ % Bismarckbraun.

Färben einige Minuten bis mehrere Stunden. Auswaschen in Alkohol von 96 % oder Salzsäure-Alkohol (1 : 100). Alkohol absol., Oel etc. Eignet sich nicht für Präparate, die in Flemming'scher Lösung fixirt wurden.

Glatte und quergestreifte Muskeln, Eiweissdrüsen, Bindegewebsfibrillen werden gelb.

Kerne werden braun, Protoplasma hellbraun, mucinhaltige Drüsen und Bakterien tiefbraun. Die Präparate eignen sich für die Photographie. Mit Bismarckbraun gefärbte Präparate können auch in Glycerin, welches andere Anilinfarben zerstört, aufbewahrt werden.

Hat sich bei Celloidinschnitten das Celloidin zu stark mitgefärbt, so wird kurze Zeit in Alkohol, dem einige Tropfen Essig- oder Salzsäure zugegeben sind, entfärbt.

12. **Eosin.** Eosin giebt schon bei einem Gehalt von 1 : 1000 den Schnitten in wenigen Minuten eine diffuse intensiv rosa Färbung der verschiedensten Substanzen; auch die rothen Blutkörper (an Schnitten, aus Alkohol-Präparaten, noch stärker, wenn Chromsalze zur Härtung benutzt wurden) nehmen einen intensiven rosa Ton an. Absoluter Alkohol zieht die Farbe anfangs sehr rasch, später langsamer aus, wodurch bei einiger Aufmerksamkeit leicht jede gewünschte Nuance der Färbung erzielt werden kann.

Eine einfache Eosinfärbung ist nur sehr selten von Vortheil (über die eosinophilen Zellen des Blutes siehe Blut), dagegen wird das Eosin sehr oft zu Doppelfärbungen verwendet, in Kombinationen mit Kernfärbungen. Des Kontrastes wegen eignen sich am besten die blauen Kernfärbungen zu diesem Zwecke, also Gentiana- oder Methylviolett, Hämatoxylin.. Siehe Doppelfärbung.

Die mit Hämatoxylin gefärbten Schnitte können in etwas eosinhaltigem, absolutem Alkohol entwässert und zugleich gefärbt werden. Auch wird Färbung erzielt durch Oel (Bergamottöl) oder Kreosot, dem etwas alkoholisches Eosin beigefügt ist. Eine ganz geringe Menge des letzteren genügt schon.

13. **Orange G.** Färbt in gesättigter wässriger Lösung (Muskeln hellgelb, Zellsubstanz hellorange wie Eosin). Schimmelt in Lösungen leicht.

14. **Pikrinsäure** (Trinitrophenol). Eine gesättigte wässrige Lösung von Pikrinsäure oder im Verhältniss 1 : 3 mit Wasser verdünnt färbt in 2—5 Minuten diffus hellgelb. Auswaschen in Alkohol Da die Pikrinsäure leicht ganz ausgewaschen wird, ist diese Procedur vorsichtig auszuführen. Man giebt am besten dem Alkohol etwas Pikrinsäure zu.

15. **Malachitgrün, Methylgrün, Säuregrün.** 1procentige wässrige Lösung mit 25 Theilen Alkohol absol. Färben 10 Minuten. Bei

24stündigem Färben wird die Lösung durch 20procentigen Alkohol auf das Doppelte oder mehr verdünnt. Auswaschen in Wasser. Alkohol von 70 % 1—2 Minuten. Alkohol absolut. 1 Minute. Xylol, Kanada. Für Schnitte. Methylgrün eignet sich mehr zu Grundfärbung bei Mehrfachfärbungen.

II. Zweifache Färbung.

Zweifache Karminfärbung.

1. **Boraxkarmin-Indigkarmin.** Norris und Shakespeare. Durch Kochen werden folgende Lösungen hergestellt:

Erste Lösung: Karmin 2 gr,
Borax 8 gr,
Aq. destill. 130 ccm,
Zweite Lösung: Indigkarmin 8 gr,
Borax 8 gr,
Aq. destill. 130 ccm.

Nach dem Erkalten wird filtrirt und zu gleichen Theilen gemischt. Schnitte von Alkohol-, Pikrinsalpetersäure- oder Sublimatpräparaten färben 24 Stunden in der Mischung. Hierauf Uebertragen in eine kalt gesättigte wässrige Oxalsäurelösung 15—20 Minnten. Auswaschen etc. Vor der Oxalsäurebehandlung ist Wasser zu vermeiden, da sonst Indigkarmin ausgezogen wird; darum wird auch verdünnte Oxalsäure schädlich. Die Kerne sind tiefroth, Bindegewebefibrillen hellroth, Plasma der Epithelien leicht grünlich, Muskeln blaugrün.

2. **Pikrokarmin** (Ranvier.) Zu einer gesättigten Lösnng von Pikrinsäure giesst man gesättigte Lösung von ammoniakalischem Karmin und dampft auf ein Fünftel des Volumen im Wasserbade ein. Abfiltriren des nach dem Erkalten gefallenen Karminniederschlages.

Bei weiterer Verdunstung scheidet sich das feste Pikrokarmin in Form eines krystallinischen rothgelben Pulvers aus, das in destillirtem Wasser gelöst und als 1procentige Lösung benützt wird.

Zur Färbung wird zu dem auf dem Objektträger befindlichen Schnitt ein Tropfen Pikrokarmin gegeben, welcher im feuchten Raum Kerne in 24 Stunden färbt.[1])

Aufsaugen des Pikrokarmins mit Fliesspapier. Auflegen des Deckglases.

Zugabe von Ameisensäure, Glycerinwasser und Ersatz desselben nach 1—8 Tagen durch Glycerin.

Erst jetzt ist die charakteristische Differenzirung erreicht.

Die Kerne werden roth, das Bindegewebe rosa, Keratohyalin roth, Hornsubstanzen gelb, elastische Fasern hellgelb, Muskeln braungelb.

[1]) Mit Eiweiss aufgeklebte Schnitte werden durch Pikrokarmin gelöst.

3. **Pikrokarmin** (Bizzozero). Reiner Karmin 0,50 gr wird in Ammoniak 3 ccm und Wasser 50 ccm gelöst.

Unter beständigem Umrühren wird zu dieser Lösung eine Lösung von Pikrinsäure 0,50 in 50 gr Wasser gegossen. Man verdampft im Wasserbade, bis kein Ammoniakgeruch mehr wahrgenommen wird. Die Flüssigkeit ist auf die Hälfte ihres Volumens verdampft (50 ccm). Man lässt nun erkalten, fügt sofort $^1/_5$ des Volumens (10 ccm) reinen Alkohol zu und bewahrt in sorgfältig verschlossener Flasche auf. Filtriren vor dem Gebrauch unnöthig.

4. **Pikrokarmin** (Friedländer). Zu 1 Theil ammoniakalischem Karmin, 1 Theil Ammoniak, 50 Wasser werden unter fortwährendem Umrühren allmählich, zuletzt nur tropfenweise, 2—4 Theile einer gesättigten Lösung von Pikrinsäure so lange gegeben, bis der anfänglich entstehende Niederschlag beim Umrühren nicht mehr gelöst wird. Je grösser der Gehalt an Ammoniak, um so grösser ist auch die nöthige Menge von Pikrinsäure. Die Flüssigkeit wird filtrirt, für ihre Conservirung werden zu je 100 ccm einige Tropfen Phenol gesetzt; eine etwa später eintretende Trübung wird durch Zusatz einer Spur Ammoniak wieder gelöst.

Das Friedländer'sche Pikrokarmin färbt in wenigen Minuten.

Zur besseren Differenzirung bringt man die gefärbten Schnitte auf $^1/_2$ Stunde in salzsäurehaltiges Glycerin (1 Theil Salzsäure auf 400 Theile Glycerin), Auswaschen in Wasser und Entwässern in Alkohol. Dem Wasser und Alkohol ist eine geringe Menge Pikrinsäure zugesetzt, um den gelben Farbenton des Präparates zu erhalten.

5. **Pikrokarmin** (Weigert). Karmin 2 gr, Ammoniak 4 ccm. Nach 24 Stunden werden der Lösung 200 ccm kalt gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung zugefügt und nach weiteren 24 Stunden Essigsäure, bis ein stärkerer Niederschlag erfolgt. Hierauf wird wieder Ammoniak tropfenweise gegeben, bis die Lösung klar ist. (Bei Grübler in Leipzig in Substanz vorräthig.)

6. **Pikrokarmin** (Hoyer). In einer Mischung aus conc. Ammoniak 1—2 ccm und 6—8 ccm Wasser wird Karmin 1 gr gelöst und die Flüssigkeit bis zur Verflüchtigung des Ammoniaks im Sandbade erwärmt. Die Farbe wird dann hellroth. Nach dem Erkalten wird filtrirt. Dieser neutralen Karminlösung wird das 4—6fache Volumen starken Alkohols zugefügt, wodurch ein hellrother Niederschlag entsteht. Filtriren, Auswaschen des Niederschlags und Trocknen. Der Niederschlag wird in einer starken Lösung neutralen pikrinsauren Ammoniaks gelöst. Dient nicht nur zur Färbung, sondern auch zur Fixirung der vitalen Methylenblaufärbung dank seinem Gehalt an pikrinsaurem Ammoniak.

7. **Pikrolithionkarmin** (Orth). Lithionkarminlösung (s. S. 112) 1 Theil, gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung 2 Theile. Wird wie Pikro-

karmin gebraucht, färbt Zellkerne roth, Epithel-, Drüsenzellen und Muskeln gelb, Bindegewebe nicht.[1])

8. **Boraxkarmin-Lyoner-Blau** (Blochmann). Durchfärbung in Boraxkarmin und Nachfärbung der aufgeklebten Schnitte in Bleu de Lyon (wässrige Lösung mit 10 % Alkohol von 96 %. Sobald die Schnitte blau erscheinen, Ausziehen in Alkohol. Plasma blau, Kerne roth. Bei längerem Verweilen in der blauen Farbe wird das Karmin leicht verdrängt.

9. **Orange G., Alaunkarmin.** Färbung 24 Stunden in concentrirter wässriger Lösung von Orange G., dann Färben in Grenacher's Alaunkarmin 10 Minuten, Auswaschen, Alkohol. Für Schnitte in Pikrinsalpetersäure oder Sublimat fixirter Präparate. Rawitz empfiehlt diese Mischung für Drüsen. Zellsubstanz orangegelb, Kern roth, Mucin rothviolett.

10. **Hämatoxylin und Karmin.** Färbung mit Böhmer's Hämatoxylin. Auswaschen. Färben in neutralem Karmin. Auswaschen, Alkohol etc.

Für in Entwickelung begriffenen Knochen (Strelzoff). Grundsubstanz des Knorpels blau, junger Knochen roth.

11. **Karmin-Hämatoxylin G.** (Fritsch). Karmin wird in Ammoniak gelöst, hierauf lässt man das Ammoniak verdunsten. Für jedesmaligen Gebrauch wird eine kleine Portion der obigen Stammlösung mit Wasser verdünnt, die in der Glasschale befindliche Lösung auf einer weissen Unterlage mit einem in Essigsäure getränkten Glasstab umgerührt. Die dunkelrothe Farbe wird hellroth durch Neutralisirung des Karmins; Färbung der Schnitte 1 Stunde, Nachfärbung mit Hämatoxylin, die jedoch, um die Karminfärbung nicht zu verdrängen, nicht zu lange dauern darf. Für Schnittpräparate. Kern blau, Zellsubstanz roth.

Hämatoxylin-Aniline.

1. **Hämatoxylin oder Hämateïn und Eosin.** Zeitlich getrennte Färbung.

Färbung in Hämatoxylin. Auswaschen in Wasser. Färben in dünner wässriger Eosinlösung 2—5 Minuten.

Man tropft von einer 1procentigen wässrigen oder alkoholischen Eosinlösung in eine Schale mit Wasser, bis dieses blassroth gefärbt erscheint, oder verdünnt die 1procentige Lösung mit etwa 5—10facher Menge Wasser.

[1]) Vorgefärbte Präparate (Karmin, Hämatoxylin und Safranin) können auch mit Pikrinsäure (gesättigte wässrige Lösung im Verhältniss von 1 : 3 mit Wasser verdünnt) nachgefärbt werden. Auswaschen in Alkohol, dann Xylol etc. Die letztere Procedur muss vorsichtig ausgeführt werden, da leicht die Pikrinsäure ganz ausgewaschen wird.

Aus Boraxkarminpräparaten wird durch Pikrinsäure Karmin ausgezogen, weshalb eine Behandlung mit saurem Alkohol unnöthig ist.

Auswaschen in Wasser, bis es keine Farbe mehr zeigt. Uebertragen der Schnitte in 96procentigen Alkohol für 2—5 Minuten. Uebertragen in absol. Alkohol 1 Minute. Xylol, Kanadabalsam. Die Eosinfärbung darf nicht zu stark sein. Bei Ueberfärbung Ausziehen des überschüssigen Eosins in 70—80procentigem Alkohol in Minuten oder Stunden. Die Kerne erscheinen blau, ebenso auch der verkalkte Knorpel, Protoplasma und Grundsubstanz roth oder ersteres hellblau.

Bei Vorfärbung mit Eosin Färbung in conc. wässrigem Eosin 24 Stunden, dann Auswaschen etc.

2. **Hämatoxylin-Eosin** (Renaut). Gleichzeitige Färbung. Man giebt concentrirte wässerige Eosinlösung 30 ccm zu einer abgestandenen, gesättigten alkoholischen Hämatoxylinlösung 40 ccm, die 130 ccm mit Kali-Alaun gesättigtes Glycerin (von etwa 1,26 sp. Gew.) enthält. Die Mischung bleibt 5—6 Wochen in einem mit durchlöchertem Papier bedeckten Gefässe, bis sämmtlicher Alkohol verdunstet ist und wird dann filtrirt. Das Filtrat kann noch weiter mit Glycerin verdünnt werden. Die Färbung erfolgt langsam und lässt sich anfangswieder ausziehen. Für Balsameinschluss Entwässerung in eosinhaltigem Alkohol.

3. **Hämatoxylin-Safranin.** Rabl. Fixirung in Chromameisensäure, Alkohol oder Platinchloridlösung. Färbung in verdünntem Delafield'schen Hämatoxylin. Auswaschen in Wasser und dann in schwach mit Salzsäure angesäuertem Alkohol. Färben in Safranin, gesättigte, alkoholische filtrirte Lösung (1 Volumen auf 2 Volumina Wasser) 2—24 Stunden. Entfärben in absol. Alkohol, bis keine rothen Wolken mehr abgehen.

Für Zelltheilungen.

4. **Hämatoxylin- oder Hämateïn - Orange.** Färbung mit Böhmers Hämatoxylin oder Hämateïn. Auswaschen in Wasser. Färben in einer 1procentigen oder gesättigten wässrigen Orangelösung, einige bis 24 Stunden. Entfärben in Alkohol von 96 %. Absol. Alkohol, Xylol, Kanada.

Für Schnittpräparate. Fixirung in Pikrinsalpetersäure, Pikrinschwefelsäure, Sublimat oder Alkohol. Muskeln hellgelb, Drüsenplasma von Eiweissdrüsen, Zellplasma, Knochengrundsubstanz orange, Bindesubstanz graublau, Mucin-Drüsen und Schleimzellen, Knorpelgrundsubstanz blau.

Doppelfärbung mit Anilinen.

1. **Methylgrün-Eosin in Mischung.** 1procentige wässrige Methylgrünlösung 60 Th., 1procentige wässrige Eosinlösung 1 Th., Alkohol absol. 40 Th.

Färben 10 Minuten, Auswaschen 5 Minuten. Kernfärbung durch Methylgrün. Begleitfarbe Eosin.

Eosin-Methylgrün. Für getrennte Färbung.

Färben in einer Lösung von 0,5 gr Eosin, 100 ccm Aq. destill. und 300 ccm Alkohol absol. 5 Minuten. Auswaschen und Färben in Methylgrün 0,5 gr, destillirtes Wasser 100 ccm, 5 Minuten. Auswaschen, Alkohol bis Eosinfarbe wieder erscheint.

2. **Eosin-Methylenblau.** (Mann). 1procentige wässrige Methylenblaulösung 00,35 ccm, 1procentige wässrige Eosinlösung 45 ccm, Aq. destill. 100 ccm werden gemischt.

Färbung in Sublimat oder Mann'scher Flüssigkeit conservirter Präparate 24 Stunden, Abspülen in Wasser, Entwässerung in Alkohol. Hierauf Uebertragung in 1 % Natronlauge (in absol. Alkohol), 4 Tropfen auf Alkohol absol. 50 ccm. Haben die Schnitte eine röthliche Farbe angenommen, werden sie in einigen Tropfen absol. Alkohol abgespült, in Wasser gewaschen und dann in leicht mit Essigsäure angesäuertes Wasser gebracht. In Folge der Neutralisirung der Natronlauge wird die Farbe blauer. Hierauf Entwässern. Zellen blau mit Ausnahme der Nucleolen, Blutgefässe roth.

3. **Safranin-Anilinblau.** Wasserlösliches Anilinblau 1 gr, destillirtes Wasser 100 ccm, absol. Alkohol 1—2 ccm. Färbung 1—4 Minuten. Auswaschen in Wasser. Uebertragen der Schnitte in eine 1procentige wässrige Lösung von Ammoniak, bis sie fast die Farbe verloren haben. Uebertragen in Salzsäurelösung von 0,5 % auf 5—10 Minuten. Auswaschen in Wasser. Färbung in Safranin[1]) 4—5 Minuten. Absol. Alkohol, Nelkenöl, Xylol. Kanada.

4. **Safranin-Gentiana** (Flemming). Fixirung in Flemming. Färbung in Safranin 2 Tage. Auswaschen, bis sich nichts mehr löst. Färbung in undurchsichtiger wässriger Gentianalösung einige Stunden bis 1 Tag. Ausziehen in schwach saurem Alkohol oder Färben nach Gram, Alkohol. Für Zelltheilungen und Spermatogenese.

5. **Safranin-Gentiana** (Hermann). Fixirung in Hermann'scher Lösung. Färbung in Safranin (nach Babes) oder Safranin 1 gr, Alkohol absol. 10 ccm, Anilinwasser 90 ccm 24—48 Stunden. Abspülen in Waser. Auswaschen in salzsäurehaltigem Alkohol. Uebertragen in neutralen Alkohol. Bevor vollkommen entfärbt ist Uebertragen 3—4 Minuten in wässrige Gentianalösung. Abspülen, Gram'sche Färbung 1—3 Stunden, bis die Präparate schwarz sind. Absol. Alkohol, Xylol etc. Für Zelltheilungen und Spermatogenese.

6. **Safranin-Lichtgrün** (Benda). Fixirung in Flemming'scher Lösung. Färbung in Anilin-Safranin. Babes (s. oben S. 118) 24 Stunden. Färben $^1/_4$—$^1/_2$ Minute in Lichtgrün (1 gr in 100 ccm Alkohol 96 %).

[1]) Safranin 1,
Alkohol absol. 100,
Aq. destill. . . . . 200.

Differenzirung muss sorgfältig überwacht werden, weil Safranin leicht durch das Grün verdrängt wird. Zellsubstanzen grün, Kerne roth.

Dreifache Mischungen.

1. **Pikrokarmin-Hämatoxylin** (Flemming). Färbung in mittelstarker Pikrokarminlösung 24 Stunden, dann in Delafields Hämatoxylin. Auswaschen in Alkohol. Für Haut. Bindegewebe rosa, Muskeln und Zellen gelbröthlich, Zellkern dunkelroth bis violett, Hornsubstanz des Haares gelb, innere Wurzelscheide hellblau und Stratum luc. grün.

2. **Pikrinsäure, Säurefuchsin, Hämatoxylin** (van Gieson'sche Mischung). Siehe Hyaline Entartung.

3. **Methylgrün, Säurefuchsin, Orange G.**[1]) (Ehrlich-Biondische Mischung). Von allen 3 Farben werden gesättigte wässrige hergestellt, welche mehrere Tage stehen und öfter geschüttelt werden.

Hierauf werden gemischt:

Orange G.	100 ccm,
Säurefuchsin	20 „
Methylgrün	50 „

Letzteres wird unter stetem Umrühren der Mischung zugefügt.

Zur Färbung wird 1 Theil der gesättigten Lösung mit 60—100 Theilen Wasser verdünnt. Sublimathärtung. Für Schnitte. Rasches Abspülen in Wasser. Färbung 24 Stunden. Entfärben in Alkohol. Alkohol absol., Xylol, Kanadabalsam.

Die Färbung ist etwa wie bei Methylgrün und Eosin, ausserdem sind noch die Blutkörperchen orange gefärbt.

4. **Ehrlich's Triacidgemisch.**[2]) Aq. destill. 100 ccm, gesättige wässrige Lösung von Orange G. 135 ccm, gesättigte wässrige Lösung von Säurefuchsin 65 ccm werden gemischt; der Cylinder, in dem die Farblösungen abgemessen wurden, wird mit Aq. destill. 100 ccm ausgespült.

Gesättigte Aethylgrünlösung 125 ccm wird unter häufigem Schütteln zugegossen, dann destill. Wasser 100 ccm, womit der Cylinder ausgespült wurde. Dem Ganzen werden noch 96procentiger Alkohol 100 ccm und Glycerin 125 ccm zugefügt.

5. **Oppel's Dreifarbengemisch.**

1. 1procentige	wässrige Methylgrünlösung . . .	120 ccm,
2. 1procentige	„ Eosinlösung	2 „
3. 1procentige	„ Säurefuchsinlösung . .	40 „
4 Alkohol absol.		40 „

werden gemischt. 15 Minuten Färbung, dann Verweilen in gesättigter

[1]) Die Farbmischung ist als Pulver von Dr. Grübler in Leipzig zu beziehen.

[2]) Fertig von Grübler in Leipzig zu beziehen.

wässriger Pikrinsäurelösung 80 ccm + 20 ccm Alkohol abs. auf 30 Secunden. Hierauf Alkohol etc.

6. **Flemmings Orangeverfahren.**

1. Conserviren in Flemming'scher oder Hermann'scher Lösung (siehe Fixiren).
2. Einlegen der Schnitte in einige ccm gewöhnlicher Safraninlösung 2—3 Tage.
3. Abwaschen in destill. Wasser.
4. Ausziehen in salzsaurem absol. Alkohol (1 : 1000) bis nur wenig Farbe mehr ausgeht.
5. Nochmaliges Waschen in Aq. destill.
6. Färben in wenig wässriger Gentianaviolettlösung 1—3 Stunden.
7. Kurzes Waschen und Einlegen in concentrirte Lösung von Orange G.
8. Nachdem keine Farbstoffwolken mehr aufgetreten (nach wenig Minuten), Einlegen in mehrmals zu erneuernden neutralen absol. Alkohol etc.

Für Zelltheilungen. Spindelfäden und Centralkörper graubraun bis violett, Attraktionssphären dunkler als gewöhnlich. Beim Einlegen in Alkohol scheidet sich leider Orange krystallinisch im Schnitte ab.

b. Adjektive Färbungen.

I. Hämatoxylinlacke.

Der Farblack wird durch die Beize in dem bereits gefärbten Präparat erzeugt.

Heidenhain's Hämatoxylinfärbung.

1. Färben der Stücke 8—24—48 Stunden in einer wässrigen, warm bereiteten 0,5—1procentigen Hämatoxylinlösung oder einer etwas schwächeren Hämateïnlösung. Alaunhämatoxylin ist zu vermeiden.
2. Uebertragen ebenso lange in eine $^1/_2$—1procentige Lösung von einfachem Kali chrom. Diese Lösung wird so lange gewechselt, bis keine Farbwolken mehr abgehen. 24—48 Stunden.
3. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser, Alkohol abs., Einschmelzen.

Die dunkelschwarze Färbung giebt recht scharfe Bilder, jedoch müssen die Schnitte sehr dünn sein (5 μ). Die Präparate gewinnen durch Kerntinctionen mit Boraxkarmin, Alaunkarmin und Hämatoxylin.

Apathy's Modifikation des Heidenhain'schen Verfahrens vermeidet die lange Berührung mit wässerigen Lösungen, durch Anwendung einer 0,5procentigen alkoholischen Lösung von Hämatoxylin und einer alkoholischen Lösung

von doppelt chromsaurem Kali, die er gewinnt, indem er zu einer 5procentigen wässrigen Lösung des doppelt chromsauren Kali das doppelte Volumen absoluten Alkohols fügt. Die Färbung tritt dann rascher (nach 1 Stunde) ein.

Das Heidenhain'sche Verfahren ist durch bessere Methoden ersetzt.

Aeltere Eisenhämatoxylinfärbung (Benda).

1. Einlegen der Schnitte auf Minuten bis Stunden in eine concentrirte Lösung von schwefelsaurem Eisenammonium (Oxydsalz) oder Eisenalaun.
2. Sorgfältiges Auswaschen.
3. Uebertragen in eine 1procentige wässrige Hämatoxylinlösung 10 Minuten.
4. Differenzirung der schwarzen Schnitte in Chromsäurelösung 1 : 2000. Für Schnitte nach verschiedensten Fixirungen.

Aeltere Eisenhämatoxylinmethode Benda's, modificirt durch Heidenhain.

1. Einlegen der Schnitte in eine 1,5—4procentige Eisenalaunlösung $^1/_2$—2—3 Stunden.
2. Kurzes Abspülen in Wasser.
3. Einlegen in eine wässrige Lösung von Hämatoxylin $^1/_2$—12 Stunden.
4. Kurzes Abspülen der schwarzen Schnitte in Leitungswasser.
5. Differenzirung in der Beizflüssigkeit.[1]) Für Centrosomen.

Neue Eisenhämatoxylinmethode (Benda).

Die durch Eisenalaun erzeugten Niederschläge vermeidet Benda durch folgendes neue Verfahren. Die Fixirung ist gleichgültig.

1. Beizen der Schnitte in Liquor ferri sulfur. oxydati des Pharmakopoea germ. verdünnt mit 1—2 Volumen Aq. destill. 24 Stunden.
2. Sorgfältiges Waschen der Schnitte in destillirtem und dann in gewöhnlichem Wasser.
3. Einlegen der Schnitte in eine 1procentige wässrige Hämatoxylinlösung, bis sie schwarz sind.
4. Kurzes Waschen.
5. Differenzirung in 10—30procentiger Essigsäure. Für verschiedene Organe, auch für Achsencylinderfärbung.

Kupferhämatoxylinmethode (Benda).[2])

1. Fixirung nach Flemming.
2. Einlegen der Schnitte 24 Stunden bei 40° C. in concentrirte, wässrige Lösung von neutralem, essigsaurem Kupferoxyd oder 48 Stunden bei Zimmertemperatur.

---

[1]) Der durch Beizen erzeugte Farblack wird z. Th. in einem Ueberschuss der Beize gelöst.

[2]) Archiv für mikroskopische Anatomie, Bd. XXX. 1887.

3. Sorgfältiges Auswaschen.
4. Färbung der Schnitte in wässriger (1 %) Hämatoxylinlösung, bis sie dunkelgrau bis schwarz sind.
5. Differenzirung der Schnitte in Salzsäure (1 : 300—500), bis sie hellgelb sind.
6. Neutralisirung der Säure in der Kupferlösung (1), wodurch die Schnitte hellblaugrau werden.
7. Gründliches Auswaschen.
8. Entwässern, Oel, Kanada.

Die Mitosen erscheinen fast schwarz. Für Spermatogenese.

Kupferhämatoxylinfärbung (Weigert).

Dieses vortreffliche Verfahren für Darstellung der markhaltigen Fasern des Centralnervensystems, siehe Centralnervensystem.

Hämatoxylinfärbung (Pal).

Eine Modifikation der Weigert'schen Hämatoxylinmethode. Siehe Nervensystem.

Hämatoxylin, Safraninfärbung (Pal).

Siehe Nervensystem.

Jodhämatoxylin.

Nach Sanfelice[1]) fördert Jod die Hämatoxylinfärbung.

0,70 gr Hämatoxylin werden in 20 Gramm absolutem Alkohol gelöst und zu einer Alaunlösung (0,2 gr Alaun und 60 gr destill. Wasser) gegossen.

Das Gemisch bleibt (ohne filtrirt zu werden) 3—4 Tage im Lichte stehen, worauf 10—15 Tropfen einer alkoholischen Lösung von Jod zugefügt werden. Schütteln und Absetzen.

Für die Durchfärbung bleiben die Objekte 12—24 Stunden in der Flüssigkeit, darauf kommen sie ebenso lange in einen mit Essigsäure angesäuerten Alkohol von 90 %.

Jodhämatoxylin ist lange haltbar und bildet keine Niederschläge.

Hämatoxylin mit essigsaurer Thonerde (Haug).[2])

Für schwer tingible Präparate, für Kern- und die meisten Nervenfärbungen geeignet. Die Lösung ist sehr haltbar, muss aber gut ausreifen. Das Reifen kann durch einen Zusatz einiger ccm gesättigter Lösung von Lithion carbonic. beschleunigt werden.

Hämatoxylin 1 gr, Alkohol absol. 10 ccm wird zu einer wässrigen Lösung essigsaurer Thonerde 200 ccm gegossen.

---

[1]) Bullet. della Soc. di Naturalisti in Napoli. Vol. III. 1889. p. 37—38.

[2]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII. 1891.

Man überfärbt und entfärbt ad maximum mit Salzsäurealkohol. Dann Auswaschen in Wasser, bis die Schnitte blass werden, Gegenfärbung mit Eosin oder Erythrosin in wässeriger Lösung, welches letztere auch der Stammlösung gleich zugefügt werden kann.

II. Die Anilinlacke.

Tannin-Brechweinstein-Fuchsin oder Safranin (Rawitz).

1. Conservirung in Flemming'scher Lösung oder in Chromsäure oder Chromessigsäure.
2. Einlegen der Schnitte in eine 24 Stunden alte, 20procentige Tanninlösung bei Zimmertemperatur.
3. Sorgfältiges Waschen in destill. Wasser.
4. Einlegen in 1—2½procentige Lösung von Brechweinstein 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder 2—4 Stunden bei 40° C. (auf dem Wärmeschrank).
5. Sorgfältiges Abwaschen in destillirtem Wasser.
6. Einlegen der aufgeklebten Schnitte in die Farbflotte: gesättigte alkoholische Fuchsin- oder Safraninlösung mit der gleichen Menge Wasser verdünnt 24 Stunden.
7. Flüchtiges Abspülen in destillirtem Wasser.
8. Uebertragen in Alkohol von 96 %, bis keine Farbwolken mehr ausgehen.

Bei Ueberfärbung event. nochmals Einlegen in 2½procentiges Tannin 2—24 Stunden, dann Auswaschen, Alkohol.

Methylviolett (bezw. Gentianaviolett), Smaragdgrün lassen sich nach Vorbeizung mit Tannin in derselben Weise verwenden. Concentrirte wässrige Lösungen werden mit der doppelten Menge Wasser verdünnt.

Während Safranin, Fuchsin, Methylviolett und Smaragdgrün bei substantiver Färbung Kerne färben, kehrt sich bei adjektiver Färbung dies Verhalten um, sie färben nur Zellsubstanz und Liningerüst, sind jetzt also Plasmafarbstoffe. Für Centrosomen, Attraktionssphäre, Spindel-Fasern.

Für Flemmingpräparate. Das zum Aufkleben benutzte Eiweiss färbt sich stark mit.

Vitale Methylenblaufärbung (Ehrlich).

A. Durch Injection. Eine Lösung von 1 gr Methylenblau auf 300—400 ccm einer 0,5procentigen Kochsalzlösung in die Venen eines lebenden Thieres injicirt, färbt die Organe, nachdem sie einige Minuten der Luft ausgesetzt wurden, blau. Man untersucht frisch oder nach Fixirung mit Pikrokarmin (Hoyer) (siehe dieses) oder pikrinsaurem Am-

moniak. Pikrinsaures Ammoniak, kalt gesättigte wässrige Lösung wird zum Gebrauch mit dem gleichen Volum Glycerin verdünnt (Meyer). Dogiel fixirt ohne Glycerin entweder mit einer wässrigen Lösung des pikrinsauren Ammoniaks oder mit einem Gemisch aus

Gesättigtem wässrigen Ammoniumpikrat 100 ccm
1procentiger Osmiumsäure . . . . 1—2 „ .

Die Theile bleiben 18—24 Stunden in dem Gemisch, werden in Glycerin, dem etwas Ammoniumpikratlösung zugefügt ist, conservirt. Die blaue Farbe geht in ein Rothbraun und Blaugrün über.

B. Durch Imbibition. Die Färbung, welche im Moment des Absterbens der Organe auftritt, wird auch durch Einlegen der dem eben getödteten Thier entnommenen Organe in eine Methylenblaulösung von $1^1/_{10}\,\%$ auf 10 Minuten bis 2 Stunden hervorgerufen.

Abwaschen in $^1/_2$procentiger Kochsalzlösung.

Fixiren (siehe oben) bis 24 Stunden.

Untersuchen, Zerzupfen in ammoniumpikrathaltigem Glycerin, Schneiden in Hollundermark, Aufbewahren in Glycerin mit Ammoniumpikrat. Gefärbt werden Axencylinder der Hirnrinde, der sensibeln Nerven und der motorischen der glatten Muskeln. Die sauer reagirenden motorischen willkürlichen Nerven wie die Zellen der übrigen Organe färben sich nicht.

10. Kapitel.

Metallimprägnation.

Das Verfahren beruht auf der Eigenschaft gewisser Gewebstheile, von den Lösungen verschiedener Metallsalze mehr als andere Theile aufzu nehmen. Erfolgt später eine Reduction der Metallsalze, sei es durch Gewebssäfte, wobei sie mit Albuminaten Verbindungen bilden, sei es durch Flüssigkeiten mit denen die Gewebe künstlich durchtränkt wurden, so treten die stärker damit imprägnirten Theile getärbt und darum schärfer als die übrigen hervor.

Für solche Imprägnationen finden Gold, Silber, Palladium, Osmium, Eisen (Molybdän) Verwendung. Einige Metalle fixiren und färben zugleich.

1. **Gold.** Das Gold dient als Goldchlorid und Goldchloridkalium oder -natrium in wässerigen Lösungen von 1 : 100—1 : 1000 zur Fixation von Gewebselementen, aber auch zugleich zur Härtung und Färbung. Für Fixation von Kernstrukturen ist es jedoch weniger geeignet, als für die des Protoplasma.

Das Reagens dringt wenig in die Tiefe (daher sind nur kleinere Objekte zu gebrauchen) und wirkt nicht ganz constant; man darf sich darum nicht durch die ersten missglückten Versuche abschrecken lassen. Das Verfahren ist von grossem Werth bei experimentellen Arbeiten, Cornea, Keratitis, Regeneration. [1])

Die Vorzüge der Goldmethode bestehen darin, dass

1. das Protoplasma der Zellen, Bindesubstanz, Cornea etc. dunkelblau gefärbt wird und sich so von der hellen Grundsubstanz sehr scharf absetzt;
2. die Axencylinder der Nervenfasern isolirt gefärbt werden.

Das Eindringen des Goldsalzes und dessen Reduktion werden gefördert dadurch, dass man die Objekte sowohl vor wie nach der Goldbehandlung der Einwirkung organischer Säuren, Ameisensäure, Citronensäure, Weinsteinsäure 1%, unterwirft. Die Reduktion wird auch durch die Prichardsche Mischung Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, Wasser 98 gefördert. Drasch benutzt die p. mortem erfolgende Säurebildung zur Reduktion und verwendet (für Nerven) nicht frische, sondern 12—24 Stunden alte Präparate.

Die Cornea, resp. die sonstigen zu färbenden dünnen Stücke kommen frisch 15—30 Minuten, nach der Säurebehandlung 10 Minuten bis eine Stunde in die Goldlösung; sie nehmen darin eine strohgelbe Färbung an und werden dann für längere Zeit, etwa 24 Stunden, wieder in eine der genannten Säuren gebracht. Dann ist die Reduktion entweder geschehen, oder sie tritt erst im Laufe von Tagen, während das Präparat in Alkohol, Glycerin etc. aufbewahrt wird, vollständig ein. Die Farbe wird dabei dunkelviolett. Das Präparat gewinnt schon durch das Goldsalz eine derbe Consistenz; um es in feinste Schnitte zu zerlegen, kann man es in Alkohol noch weiter härten.

Näheres siehe Nervensystem.

a) **Cohnheims** Methode. Frische Objekte bleiben 15 Minuten bis ½ Stunde in einer 1procentigen wässrigen Lösung von Goldchlorid (oder Goldchloridkalium oder -natrium, Gerlach) im Dunkeln, bis sie strohgelb sind. Auswaschen in Wasser, Uebertragen in Wasser, welches mit etwas Essigsäure oder Ameisensäure leicht angesäuert ist, für mehrere Tage in gemässigtem Tageslicht. Durch die Reduktion erhält das Präparat eine violette Färbung.

b) **Henocques'** Methode. Das nach Cohnheim behandelte gut ausgewaschene Präparat kommt in ein gut verschliessbares Fläschchen mit concentrirter Weinsteinsäure und wird darin 15—20 Minuten der Temperatur des fast siedenden Wassers ausgesetzt. Die Reduktion tritt hier schnell ein, aber die Resultate sind nicht sehr befriedigend.

[1]) Metallinstrumente dürfen nicht mit der Goldlösung in Berührung kommen.

c) **Löwitts** Vergoldung. Kleine Objekte bleiben in einem Gemisch von 1 Theil Ameisensäure und 2 Theilen destill. Wasser 1 Minute. Hierauf kommen sie in eine kleine Menge 1procentiger Goldchloridlösung, bis sie gelb werden 5—10 Minuten. Dann Uebertragen in verdünnte und hierauf in concentrirte Ameisensäure 1 Tag im Dunkeln. Untersuchung in Wasser nnd verdünntem Glycerin.

d) **Ranviers** Vergoldung. Die frische Hornhaut kommt in gepressten und filtrirten Citronensaft 5 Minuten, hierauf in 1procentiges Goldchloridkalium (3 ccm für jede Cornea) 20 Minuten und wird 3—4 Tage in 30 ccm Wasser. das mit 2 Tropfen Essigsäure angesäuert ist, dem Licht ausgesetzt. Nach Reduktion Auswaschen und ev. Nachhärtung in Alkohol.

e) **Marinescu's** Methode. Einlegen der Stücke in frisch bereiteten filtrirten Citronensaft auf 10—15 Minuten, Auswaschen, leichtes Zerzupfen mit Glasnadeln in einem Schälchen mit Wasser, Uebertragen in 0,5procentige Goldchloridkaliumlösung, worin sie 20 Minuten dem diffusen Tageslicht (nicht Sonnenlicht) ausgesetzt werden, und öfter in der Flüssigkeit mit Glasnadeln hin und her bewegt werden, bis sie eine gelbliche Farbe angenommen haben.

Flüchtiges Auswaschen und Bewegen in Aq. dest., Uebertragen in Ameisensäure, Glycerin 1:10 einige Tage bis 2 Monate im Dunkeln bei 27° C. (nicht höher), bis das Glycerin einen violetten Ton angenommen hat.

Man prüft an Zupfpräparaten von Zeit zu Zeit die Reduktion des Goldes. Untersuchung in Glycerin.

f) **Golgis** Methode. Einlegen der frischen Objekte in eine $^1/_2$procentige Arsensäurelösung, rasches Abwaschen, Einlegen in 1procentige Lösung von Goldchloridkalium, bis gelbe Farbe eingetreten, Einlegen in 1procentige Arsensäure, Reduktion im Sonnenlicht.

g) Methode von **Retzius.** Die Objekte kommen in $^1/_2$procentige Osmiumsäure $^1/_2$ Stnnde, dann Auswaschen in Wasser, Uebertragen in $^1/_2$procentige Goldchloridlösung für $^1/_2$ Stunde. Dann Uebertragung in 2procentige Ameisensäure für 24 Stunden.

2. **Silber.** Die von v. Recklinghausen eingeführte „Silbermethode", wozu das salpetersaure Silber dient, lässt die Kittsubstanz zwischen Epithelien und Endothelien, wie die Grundsubstanz des Bindegewebes braun oder tiefbraun ungemein deutlich hervortreten und findet darum Anwendung zur Darstellung der Saftlücken, Blut- nnd Lymphgefässe. Sie ist für die normale Histologie von grossem Werthe; die wichtige Entdeckung, dass die Wandungen der Lymph- und Blutkapillaren, die man früher für homogen hielt, aus endothelialen Zellen zusammengesetzt sind, wurde bekanntlich durch die Silbermethode ermöglicht. In pathologischen Fällen kommt sie zur Anwendung, wenn es sich um Constatirung eines endothelialen Ueberzuges an einer vorliegenden Fläche handelt.

Die Schwierigkeiten der Methode liegen darin, dass das angewandte Silbersalz, gewöhnlich das Nitrat, mit den eiweisshaltigen Körperflüssigkeiten körnige und fädige Gerinnungen giebt, die leicht Trugbilder erzeugen können, während wir das Bestreben haben, den Silberniederschlag nur allein an den Kittleisten der Endothelzellen eintreten zu lassen. Wir können die Silbermethode daher fast nur an natürlichen Oberflächen anwenden, da Silbersalz nur sehr wenig in die Tiefe der Gewebe eindringt.

Man benutzt am besten sehr dünne Lösungen, 1:500; die Oberfläche des Organs wird, wenn nöthig, mit destillirtem Wasser oder mit einer dünnen Lösung von salpetersaurem Natron (2%) abgespült, dann mit einer Silberlösung übergossen, nach etwa einer Minute wieder mit destillirtem Wasser abgewaschen. Nach kurzer Zeit, am raschesten unter Wirkung des Sonnenlichtes, treten nun eventuell an den Grenzen der Endothelzellen dunkelschwarze Linien auf; die Kerne sind gewöhnlich nicht markirt, sie können nachträglich mit Hämatoxylin etc. gefärbt werden. Der Silberniederschlag wird durch verdünntes Ammoniak leicht gelöst.

Um die Grenzen der Endothelzellen in den Blutkapillaren zu markiren, wird das Silbersalz von der Arterie aus injicirt; bei Einspritzung der Silberlösung in den Bronchialbaum erzielt man eine Färbung der Zellgrenzen des Lungenalveolar-Epithels. Wenn man der Silberlösung etwa 5% Gelatine (in der Wärme) zusetzt, so erhält man den zu Injectionen ebenfalls sehr brauchbaren „Silberleim", der die Zellgrenzen der injicirten Hohlräume braun färbt.

Wird eine Cornea kurze Zeit in Silberlösung gebracht oder auch mit dem Lapisstift überstrichen, so kommt dann eine dunkle Braunfärbung der Grundsubstanz zu Stande, innerhalb deren die Lücken für die Corneakörperchen als helle strahlige Figuren hervortreten. Kernfärbung mit Hämatoxylin.

Die Silbermethode ist in dieser Weise nur an frischen Präparaten, bei denen kadaveröse Zersetzungen noch nicht eingetreten sind, anwendbar.

a) **Versilberung nach Deckhuyzen.**[1]) Um die Kerne bei Silberbehandlung deutlich zu machen, empfiehlt Deckhuyzen Abspülung des Organs (Mesenterium des Frosches nebst Darmschleife) in einer 1,3- bis 1,34procentigen Lösung von Kalisalpeter, Einlegen in eine 0,25procntige Lösung von Silbernitrat, welche 3% Salpetersäure enthält. Nach 3—6 Minuten kommt das Präparat in 3procentige Salpetersäure, dann in Alkohol von 96%. In wenigen Minuten ist der Präparat in diffusem Licht gefärbt.

Färbung des Kernchromatins mit Alaunhämatoxylin, Safranin, Methylgrün. Nelkenöl.

[1]) Deckhuyzen, Ueber das Imprägniren lebender Gewebe mit Silbernitrat. Anat. Anzeiger. Bd. IV. 1889. No. 25, p. 789—791.

Salpetersaures Silberammoniak ermöglicht auch die Kerne des silberimprägnirten Gewebes mit Farbstoffen, die kein freies Ammoniak enthalten, zu färben. Silberammoniak diffundirt nicht in die Gewebe.

Darstellung: Einer Lösung von salpetersaurem Silber wird soviel kaustische Ammoniaklösung zugefügt, dass der gefällte Niederschlag sich wieder löst, und dann die Lösung so verdünnt, dass sie 0,75—0,5% salpetersaurem Silber entspricht. Die übrige Behandlung wie beim Silbersalpeter.

b) **Versilberung nach Boveri.** Mischung gleicher Theile einer 1procentigen Ueberosmiumsäure- und Silberlösung. Durch die Osmiumsäure wird das Gewebe gehärtet und gefärbt und insbesondere das Fett hervorgehoben.

c) **Versilberung nach Kolossow.** Neuerdings empfiehlt Kolossow[1]) ein ähnliches Verfahren für Endothel der Gefässe und seröser Membranen. Diese werden, um die an der Oberfläche haftende seröse Flüssigkeit zu entfernen, zuerst mit einer Kochsalzlösung von 0,6% berieselt oder damit eingespritzt. Hierauf werden die Membranen in folgende Lösung übertragen oder damit injicirt (Gefässe).

Ag. NO_3	0,25 gr,
Osmiumsäure	1 gr,
Destillirtes Wasser . . .	200 cc.

10 Minuten Auswaschen mit destill. Wasser und dann (bei Gefässen) Injection mit dem sogenannten Entwickler:

Destill. Wasser	450 cc,
Alkohol von 85°	100 cc,
Glycerin	50 cc,
Tannin puriss.	30 gr,
Pyrogallussäure	30 gr.

Durch Tannin und Pyrogallussäure wird die Osmiumsäure reducirt. Hierauf Einwirkung oder Injektion einer schwachen $^1/_4$procentigen Osmiumsäure, Abwaschen in destill. Wasser, Härtung in Alkohol von 85% und dann absol. Alkohol.

d) **Golgis Silbermethode** und deren Modifikationen s. Nervensystem.

3. Dsmiumsäure. (Ueberosmiumsäure.) Dieses von Max Schultze zuerst verwendete Reagens hat eine vielfache Anwendung gefunden; es dient 1) zur Fixation und Härtung von zarten Gewebselementen in annähernd natürlicher Gestalt (siehe Fixiren S. 49), 2) zur Hervorhebung resp. Färbung der Fette, mit Einschluss des Nervenmarks, 3) zur Isolirung, 4) als Zusatz zur Entkalkungsflüssigkeit.

[1]) Kolossow, Neue Methode der Bearbeitung der Gewebe. — Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. IX, Heft 1. 1892. S. 43.

Die Lösung der Osmiumsäure dringt nur in die oberflächlichen Schichten der Präparate ein.

Man benutzt eine Lösung von 0,1—1%; zu beachten ist, dass die Osmiumdämpfe auf die Conjunctiva und Nasenschleimhaut einen sehr heftigen Reiz ausüben.

Die Lösung der Osmiumsäure wird ebenso wie die des Goldchlorids und des salpetersauren Silbers in braunen Flaschen aufbewahrt.

Kleine Gewebsstücke, die in frischem Zustande für kurze Zeit, etwa eine Stunde, in dünne Osmiumlösungen eingelegt und dann in Glycerin aufbewahrt werden, geben oft sehr gute Isolationen der zelligen und faserigen Elemente, welche durch das Reagens neben der leicht braunen Färbung zugleich eine gewisse Resistenz erhalten haben. Diese Methode ist besonders für das Nervensystem, aber auch für andere Theile zu gebrauchen. Die rothen Blutkörperchen und Blutplättchen werden durch Osmium gebräunt und sind dann für die meisten Einwirkungen sehr widerstandsfähig; schon die bei Zimmertemperatur sich entwickelnden Osmiumdämpfe haben diese Wirkung; man bringt zu diesem Zwecke das im hängenden Tropfen auf der unteren Fläche des Objektträgers befindliche Präparat über den Hals einer mit Osmiumsäure gefüllten Flasche.

Wirkt die Osmiumsäure intensiver und längere Zeit ein, so werden kleine Gewebsstücke, Nerven etc. gehärtet.

Die verschiedenen Fette, ebenso das Nervenmark, werden durch die Osmiumsäure in wenigen Minuten tief schwarzbraun gefärbt durch Reduction des Metalls, wie allgemein angegeben wird; wahrscheinlich liegt hier eine besondere Verbindung vor. Diese frappante Färbung ist als die beste Farbenreaktion der Fette für uns von grossem Werthe. Durch Tannin und Pyrogallussäure wird die Osmiumsäure reducirt (Kolossow).

Auch an Schnitten, die von Alkoholpräparaten entnommen worden sind, lässt sich die Reaktion noch anstellen; der Theil des Fettes, der durch den Alkohol nicht gelöst ist, wird binnen einer Viertelstunde dunkelbraun gefärbt.

Um demonstrative Dauerpräparate von Verfettungen in Niere, Leber, Herz, Granulationsgewebe, Tumoren etc. herzustellen, ist die Osmiummethode sehr zu empfehlen. Die Präparate werden entweder frisch in die Lösung gebracht oder nach Härtung in Müller'scher Flüssigkeit auf dem Gefriermikrotom geschnitten. Man kann sie nach der Härtung mit Syrup und Gummi durchtränken (s. Durchtränkung). Die Schwärzung der Fette erfolgt nach ½stündigem Verweilen der Schnitte in 1procentiger Osmiumsäure. Präparate mit osmirtem Fett sind in Glycerin oder Farrant zu conserviren.

Das geschwärzte Fett und Nervenmark wird sowohl durch belichtetes wie unbelichtetes Terpentin, Xylol, Toluol, Aether und Kreosot gelöst, nicht aber in Chloroform und Nelkenöl.

Kolossow benutzt die Reduktion der Osmiumsäure durch organische Substanzen, sogenannte Entwickler (Tannin oder Pyrogallussäure), um eine differente Färbung (grau bis schwarz) in den Osmiumpräparaten zu erzielen.

Zur Fixirung empfiehlt Kolossow:

Alkohol absol.	50 cc,
Wasser destill.	50 cc,
Acidum nitric. conc. . . .	2 cc.
Osmiumsäure	1—2 gr.

Diese Lösung muss in der Kälte aufbewahrt werden.

Der Entwickler Kolossow's besteht aus:

Wasser destill.	450 cc,
Alkohol von 85°	100 cc,
Glycerin	50 cc,
Tannin puriss.	30 gr,
Pyrogallussäure	30 gr.

30 gr Tannin werden in 100 cc destill. Wassers gelöst. Die Lösung bleibt 24—48 Stunden in einem unverschlossenen Gefässe stehen, darauf wird sie vom Bodensatz abfiltrirt.

Zu dem Filtrat kommen 30 gr Pyrogallussäure in 100 cc Wasser. hierauf Wasser, Alkohol und Glycerin.

4. Eisen. Schwefelsaures Eisenoxydul dient zur Imprägnation der Grundsubstanz (Hornhaut).

Die frische Hornhaut wird nach Abpinselung oder Abschaben ihres Epithels und Endothels auf 2 Minuten in die Lösung gebracht, hierauf momentan in Wasser abgespült und darauf mit der Pincette in einer Lösung des rothen Blutlaugensalzes hin und hergeschwenkt, bis sie eine gleichmässig blaue Färbung angenommen hat. Kurzes Auswaschen in destillirtem Wasser, Alkohol, Oel. Die Grundsubstanz färbt sich blau, die Lücken bleiben hell.

11. Kapitel.

Aufhellen der Präparate.

Feuchte, frische oder gehärtete Präparate können wir dadurch aufhellen und gewisse Strukturen deutlich machen. dass wir ihre Grundsubstanz zum Quellen bringen oder mehr oder weniger zerstören.

Den ersten Zweck erreichen wir schon durch Zusatz verdünnter Essigsäure (2—5 : 100), welche die Kerne, elastische Fasern und Fett, Nerven, Mikroorganismen besser hervortreten lässt, oder durch Alkalien, welche Zellen und Grundsubstanz zerstören und nur die elastischen Fasern wenig verändern.

Ausser diesen Mitteln, welche mehr oder weniger die Gewebe alteriren, haben wir aber noch andere, welche nur durch ihr stärkeres Lichtbrechungsvermögen, indem man die Gewebe mit ihnen durchtränkt, diese durchsichtiger machen. Durch die Aufhellung können aber leicht zarte Strukturen verloren gehen. Um dies zu verhüten, suchen wir durch Färbung diese deutlicher zu machen. Wir wenden also diese Aufhellungsmittel meist nur bei vorher gefärbten Präparaten an.

Solche Aufhellungsmittel sind Glycerin, Levulose, Farrant'sche Flüssigkeit, Kali aceticum, ätherische Oele, Kreosot, Karbolsäure, Xylol, Anilin und Harze. Viele dieser Aufhellungsmittel dienen zugleich als Einschlussmassen.

1. **Glycerin.** Das Glycerin muss vor Allem frei von Säure sein; ein geringer Wassergehalt stört weniger. Wir verwenden es meist rein; mit Wasser verdünntes Glycerin pflegt leicht zu schimmeln.

Das Glycerin ist von grossem Werthe für die Untersuchung von Organen, die in Alkohol und anderen, das Eiweiss coagulirenden Substanzen — Pikrinsäure, Chromsäure und deren Salze etc. — gehärtet sind. Hierbei sind starke Trübungen in den Geweben entstanden; zwar können wir mit Säuren oder Alkalien die durch das Härtungsmittel niedergeschlagenen Eiweisskörnchen lösen, aber wir zerstören zugleich viele andere Strukturen, so die Bindegewebsfasern, das Fibrin, die Blutkörperchen.

Deshalb benutzen wir für diese Fälle als Aufhellungsmittel das Glycerin, welches nicht durch chemische Lösung resp. Quellung der Eiweisskörner (nur das Fett wird allmählich im Glycerin gelöst), sondern vielmehr lediglich durch sein hohes Lichtbrechungsvermögen die Theile aufhellt.

Wir können uns diese Wirkung sofort anschaulich machen, wenn wir den Contour eines Glasstabes, der in Wasser getaucht wird, mit dem eines Glasstabes in Glycerin vergleichen; der letztere ist viel zarter. Oder wenn wir ein Stück Filtrirpapier mit Wasser, ein anderes mit Glycerin durchtränken; das letztere wird viel durchsichtiger. Die Contouren eines mit Glyceriu getränkten Gewebsstückes werden also sämmtlich viel zarter; daher ist das Glycerin bei der Untersuchung frischer Gewebe, deren Elemente ohnehin schon sehr zarte Contouren haben, für die meisten Fälle unbrauchbar, weil die Contouren dann fast ganz unsichtbar werden. Dagegen ist der Grad der durch das Glycerin bewirkten Aufhellung besonders für Alkohol-Präparate gerade passend.

Das Glycerin mischt sich mit Wasser, sowie mit Alkohol, Essigsäure etc. in jedem Verhältniss, allerdings entsprechend seiner syrupösen Consistenz ziemlich langsam; wollen wir also eine chemische Reaction recht schnell eintreten lassen, z. B. die Wirkung von Jod oder einer Säure constatiren, so ist ein Glycerinpräparat dazu weniger geeignet. Das Glycerin ist leicht zu entfernen, indem wir das Präparat in ein Schälchen mit Wasser legen.

Das Glycerin hat ausserdem die Eigenschaft, dass es an der Luft weder verdunstet, noch sonstige chemische Veränderungen eingeht; höchstens nimmt es unter Umständen aus feuchter Luft etwas Wasser auf. Diese Eigenschaft macht es zu einem vorzüglichen Conservirungsmittel für mikroskopische Präparate; will man ein in Wasser oder einer wässerigen Lösung befindliches Präparat conserviren, so braucht man nur einen Tropfen Glycerin an den Rand des Deckgläschens zu bringen; mit der Verdunstung des Wassers dringt das Glycerin ein. Auch frische Präparate kann man auf diese Weise, wenn auch unter Schrumpfung, conserviren; verdrängt man später das Glycerin durch Wasser oder Kochsalzlösung, so ist der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt.

Die dunkle Contourirung, der Glanz der elastischen Fasern und Platten wird im Glycerin nur wenig verringert, da ihr Lichtbrechungsvermögen noch erheblich höher steht; dagegen geht der eigenthümliche Glanz, den die amyloide Substanz, das Hyalin, colloide Stoffe, Fett und Kalk bei Untersuchung in wässerigen Flüssigkeiten darbieten, im Glycerin zum grossen Theile verloren, weil ihr Brechungsvermögen sich nur sehr wenig von dem des Glycerins unterscheidet. Bei genauer Untersuchung ist der Unterschied in den meisten Fällen zwar noch einigermaassen deutlich; immerhin thut man gut, wenn man nach diesen Dingen sucht, die Präparate erst in Kochsalzlösung oder Wasser zu betrachten. Dass kleine Fetttröpfchen in Glycerin vollständig unsichtbar werden, ist bereits bemerkt worden; man darf natürlich zur Untersuchung auf Verfettung niemals Glycerinpräparate benutzen. Ein anderer Nachtheil des Glycerins ist die Schrumpfung nicht genügend gehärteter Präparate, das allmähliche theilweise Ausziehen der Farbstoffe, wie der Aniline, des Hämatoxylins und Hämateïns.

2. **Kali aceticum.** Eine gesättigte (50procentige) Lösung von Kali aceticum (von Max Schultze empfohlen) kann ebenfalls als Conservirungsflüssigkeit verwendet werden; auch diese Flüssigkeit ist der Verdunstung nicht ausgesetzt, luftbeständig. Eine aufhellende Wirkung kommt derselben nur in geringem Grade zu, wir werden sie daher besonders zur Conservirung frischer, nicht gehärteter Objekte verwenden. Besonders zur Conservirung von Verfettungen ist diese Methode ziemlich brauchbar; freilich verlieren die Contouren der Fetttropfen mit der Zeit ihre ursprüngliche Schärfe. Osmiumpräparate halten sich beseer in Kali aceticum als in Glycerin.

3. **Oele.** Wünschen wir an den Präparaten eine noch weitergehende Aufhellung (besonders nach intensiver Färbung), so verwenden wir verschiedene Oele: Terpentin, Nelken-, Cedernholz-, Origanum-, Zimmet-, Bergamott-, Anis-, Lavendel-Oel etc., sowie das Xylol und Phenol (Kreosot). Alle diese Flüssigkeiten sind mit Wasser gar nicht oder nur sehr wenig mischbar, die aufzuhellenden Schnitte werden demnach zuerst durch Alkohol entwässert; es genügt, sie für einige Minuten in ein Uhrschälchen mit Alkohol zu bringen, dann durchtränken sie sich alsbald mit Oel, und der

Schnitt erhält eine maximale Transparenz. Das Lichtbrechungsvermögen der genannten Flüssigkeiten ist ein sehr hohes, viel höher, als das des Glycerins, nahezu dasselbe, wie das des Glases. Auch die härtesten Contouren der menschlichen und thierischen Elementartheile gehen bei dieser Behandlung fast vollständig verloren; an ungefärbten Präparaten sehen wir gewöhnlich fast gar nichts mehr; auch die elastischen Fasern sind nur noch mit Mühe zu erkennen, besonders wenn die offene Beleuchtung mittelst des Condensors (Abbé-Koch) benutzt wird; um so deutlicher treten die gefärbten Partien, das Farbenbild, zu Tage. Wir müssen demnach bei einer derartigen Untersuchung stets im Auge behalten, dass wir den grössten Theil der Strukturen absichtlich unserer Untersuchung entzogen haben.

Die genannten Oele sind nicht von gleichem Werth. Terpentin macht die Präparate brüchig und beeinträchtigt mit der Zeit die Hämatoxylinfärbung. Andere entziehen verschiedene Farben. So entfärbt Bergamottöl Eosin, Nelkenöl zerstört ebenfalls manche Farben und löst Celloidin. Am unschädlichsten scheint Cedernöl und Ol. Origani cretic. zu sein.

4. **Kreosot, Carbolsäure, Xylol, Anilin.** Diese Körper, besonders concentrirte Carbolsäure entwässern und hellen auf. Sie finden statt der Oele da Anwendung, wo durch jene Färbungen zerstört werden könnten, oder wo man die Einbettungsmasse der Präparate (Celloidin), welche sich in absolutem Alkohol leicht löst, zu erhalten wünscht. Die Entwässerung vollzieht sich jedoch langsamer als in Alkohol, und die Schnitte schrumpfen leicht. Obige Stoffe mischen sich mit Canadabalsam.

Zur Aufhellung von Schnittserien aus Celloidinpräparaten mischt Weigert 3 Raumtheile Xylol mit 1 Theil Acid. carbolic. pur. resp. liquefact. Nur muss man die flüssige Carbolsäure möglichst wasserfrei verwenden. Deshalb entwässert man die Mischung mit ausgeglühtem Kupfervitriol. Man erhitzt Kupfervitriolkrystalle in einer Porzellanschale so lange, bis sie nach kurzer Zeit zu einem weissen Pulver zerfallen sind. Dann lässt man das Pulver abkühlen und giebt davon in eine hohe, recht trockene 250-Gramm-Flasche (etwa soviel, dass es 2 cm hoch steht). Man giesst die obige Mischung darauf und schüttelt. Das Pulver setzt sich sehr bald zu Boden, und die darüber stehende Flüssigkeit lässt sich klar abgiessen.

In dieser Mischung werden die aus 80procentigem Alkohol genommenen Celloidinschnittbänder sehr bald hell und können, wenn sie nicht schon auf dem Objektträger fest liegen, auf einen solchen gebracht werden. Man trocknet sie dann mit aufgelegter, mehrfacher Lage von Fliesspapier ab und schliesst sie mit dickflüssigem Balsam ein. Die gebrauchte Mischung kann man für weiteren Gebrauch wieder in die Flasche zurückgiessen und dies immer wiederholen.

Die Carbolsäure-Xylolmischung findet nur für Hämatoxylin- und Karminpräparate Anwendung. Mit basischen Anilinfarbstoffen tingirte Schnitte entfärben sich. Für letztere eignet sich Vorfärbung mit Karmin, Nachfärben mit Anilinwassergentianaviolett, darauf Jodjodkaliumlösung und Aufhellen in Xylol mit Anilinöl vermischt.

12. Kapitel.

Aufbewahren und Einschliessen der Präparate.

Um frische Präparate, die in Kochsalzlösung (0,75—1%) liegen, für einige Tage zu conserviren, hat man sie nur in einen feuchten Raum zu bringen, der leicht in folgender Weise hergestellt wird: Eine grosse flache Glasschale wird einige Millimeter hoch mit Wasser gefüllt; in der Schale steht auf einem Gestell aus Draht oder Glasstäben eine kleine Glasplatte, welche die Präparate trägt; über dieselbe wird dann eine Glasglocke gestülpt, die an ihrer Innenseite mit feuchtem Fliesspapier ausgekleidet wird; hierdurch wird der Raum, in welchem die Präparate aufbewahrt werden, abgeschlossen und genügend feucht erhalten. Anstatt der Glasplatte kann man eine hölzerne oder metallene Etagère benutzen, in welcher die Präparate in mehreren Schichten übereinander liegen, ohne sich zu berühren, oder man kann mehrere derartige Glasplatten resp. Glastischchen übereinander bauen; dem Sperrwasser kann ein Antiseptikum hinzugefügt werden. Für längere Zeit sind frische Präparate in ihrer vollen Zartheit nicht zu conserviren; sie in Kochsalzlösung einzukitten, führt nicht zum Ziel, da die Elemente meist schon in kurzer Zeit zerfallen; ausserdem verdunstet in den meisten Fällen das Wasser trotz sorgfältiger Verkittung. In Kali aceticum, dessen gesättigte Lösung bekanntlich luftbeständig ist, lassen sich manche Dinge erhalten, indessen geht auch hier viel von der ursprünglichen Zartheit der Contouren verloren.

Schnitte fixirter Präparate lassen sich in $^3/_4$procentiger Kochsalzlösung mit einem Procent Chloralhydrat Tage lang aufbewahren, ohne zu verschimmeln.

A. Der feuchte Einschluss. 1. Einschluss in Glycerin und Levulose. Glycerin, vollkommen neutral oder etwas sauer.

Das Glycerin findet nur Anwendung, wenn man gewisse Strukturen erhalten und stärkere Schrumpfung wie bei Alkoholbehandlung oder anderweitige Veränderung wie das Ausziehen von Fett und Farbe vermeiden will. Die Präparate werden aus Wasser oder event. Alkohol übertragen. am besten erst in ein durch Wasser verdünntes Glycerin, welches man allmählich durch Zusatz neuen Glycerins concentrirt.

Levulose bricht Licht etwas stärker als Glycerin, bietet aber keine weiteren Vortheile.

Die Einschlüsse mit Glycerinleim, Glyceringummi und Farrant erhärten wohl mit der Zeit und verhalten sich darum wie trockene Einschlüsse, können aber als halbfeste Einschlüsse bereits hier Erwähnung finden.

Glycerinleim wird durch leichtes Erwärmen flüssig und beim Erkalten starr. Reine Gelatine wird zwei Stunden in kaltem Wasser aufgeweicht. Das Wasser wird abgegossen, die gequollene Gelatine lässt man im Wasserbad schmelzen und fügt die gleiche Menge Glycerin zu. Ist die Masse erstarrt, werden einige Kampherstückchen (gegen Verschimmeln) zugegeben.

2. Der Einschluss in Farrant'scher Lösung: Diese Lösung besteht aus:

Gummi arabic. elect. in granulis. Glycerin. Concentrirter wässriger Lösung von arseniger Säure.	Zu gleichen Theilen.

Hämatoxylin- und Karminpräparate halten sich gut. Farrant bricht das Licht weniger wie Damar, aber stärker als Glycerin.

Die Präparate kommen aus Wasser oder Glycerin nach Absaugen der überschüssigen Flüssigkeit auf den Objektträger in einen Tropfen Farrant. Einschluss nicht nöthig, da Farrant erhärtet.

3. Der Einschluss in Gummisyrup. Besonders für gewisse Fälle (Methylenblaupräparate des Nervensystems Apáthy[1]).

Gummi arabic. in ausgelesenen farblosen Körnern	50 gr,
Nicht kandirter Rohrzucker	50 gr,
Destillirtes Wasser	50 gr.

Der auf dem Wasserbad bereiteten Lösung werden noch 5 Centigramm Thymol zugefügt.

Umrandung, Einkittung der Glycerinpräparate. Zur Aufbewahrung feuchter und empfindlicher Präparate, wie z. B. Blut, für kurze Zeit empfiehlt sich die Umrandung mit Oel, Fett, Wachs, Paraffin, Paraffin liquidum. Für dauernde Aufbewahrung werden die Glycerinpräparate mit einem Lackrahmen umgeben, der das Deckgläschen fixirt und Verdunstung verhindert. Da der Lack mit der Zeit Risse bekommt, muss er von Zeit zu Zeit erneuert werden. Als Einschlusslacke finden Verwendung der Asphaltlack, der schwarze Maskenlack, Bernsteinlack, weisser Lack, Siegellack in Alkohol.

1. Entweder wird der Einschlussrahmen gezogen, wenn das Präparat (in Glycerin) bereits mit dem Deckgläschen bedeckt ist oder

[1]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. IX, 1892, S. 36.

2. das Präparat wird auf den bereits mit Lackrahmen versehenen Objektträger in eine sogenannte Zelle gebracht.

Im ersten Falle ist es oft zeitraubend, das über den Deckglasrand vorgedrungene Glycerin von Deckglas und Objektträger so vollkommen durch einen mit Alkohol etwas befeuchteten Pinsel zu entfernen, dass der Lack haften kann. Man beginnt am besten zuerst an den Ecken des Deckglases kleine Tröpfchen des Lackes aufzutragen, um dadurch das Deckglas zu fixiren. Sind diese Tröpfchen fest geworden, umrandet man das Deckglas, indem man auf dessen Ränder und auf den Objektträger etwas von dem Lack trägt. Nach einigen Tagen wird diese Procedur wiederholt.

Viel einfacher ist es, das Präparat in einen bereits vorhandenen Lack rahmen einzuschliessen, den man mit dem in Lack getauchten Pinsel gezogen hat. Der Rahmen muss etwas unter das Deckglas und über dessen

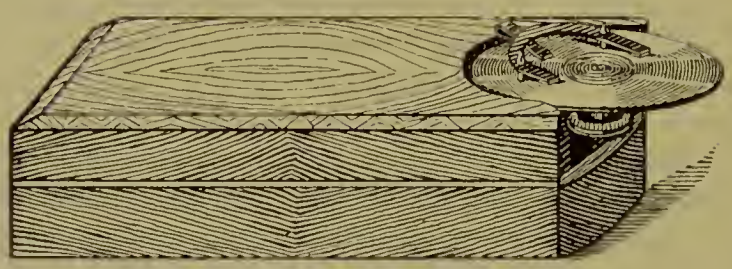

Fig. 45. Drehscheibe.

Rand reichen. Man bringt in diesen Rahmen etwas Glycerin, legt das Präparat hinein und das Deckglas auf den Lackrahmen. Der Glycerintropfen darf nicht zu gross sein, sonst tritt er über den Rand des Deckglases. Im letzteren Falle muss das Glycerin sorgfältig, siehe oben, entfernt werden. Darauf wird das Deckglas aufgelegt, mit Lack umrandet, so dass es durch den Lack mit dem Objektträger verbunden wird.

Bequemer ist es, jedoch nur für runde Deckgläschen, wenn man zuerst mit Hilfe eines Pinsels und der Drehscheibe, Fig. 45, einen Ring der Kittmasse auf den Objektträger zieht. Die Lichtung des Ringes ist etwas kleiner als der Durchmesser des Deckplättchens. Man lässt diesen Ring trocknen, bringt in den von ihm umschlossenen Raum — die sogenannte Zelle, die Conservirungsflüssigkeit und das Präparat, deckt mit Deckgläschen zu und umrandet das letztere mit einem neuen Ring der Kittmasse nach Entfernung der etwa ausgetretenen Conservirungsflüssigkeit. Nach einiger Zeit wird der frühere Ring durch neuen Lack verstärkt.

B. Der trockene Einschluss. Die Harze geben den haltbarsten Einschluss. Sie kommen besonders für Schnitte gehärteter Präparate in Anwendung.

Hierzu dient Canadabalsam, Damarlack, venetianisches Terpentin in dünner Schicht.

Als Einschlussmittel sind jene vorzuziehen, welche nicht zu rasch eintrocknen, wodurch krystallinische Ausscheidungen und Luftblasen auftreten, wie dies bei dem in Alkohol gelösten Kolophonium und Sandarak der Fall.

Der Canadabalsam, wie er in den Handel kommt, als zähflüssige Masse, findet keine Anwendung. Er wird entweder eingedickt oder gelöst. Die Eindickung geschieht, indem man ihn auf dem Objektträger erwärmt, bis der Tropfen nach dem Erkalten fest ist. Dann wird er aufs Neue durch Erwärmen erweicht und nun der lufttrockene Schliff, Knochen oder Zahn rasch eingedrückt und das Deckglas aufgelegt. Hierauf lässt man das Harz unter Wasser rasch abkühlen. Der zähe Balsam dringt in die Höhlen des Schliffes nicht ein, die Luft bleibt in diesen erhalten. Dies Verfahren ist dem Einschluss in Luft vorzuziehen, weil bei ersterem Unebenheiten des Schliffes mehr verdeckt werden.

Der Canadabalsam empfiehlt sich durch sein starkes Brechungsvermögen besonders für solche Präparate, bei denen es auf grössere Durchsichtigkeit (Auslöschen des Strukturbildes) ankommt. Er findet darum mehr für Injektions- und gefärbte Präparate, Mikroorganismen, Anwendung. Man verdünnt den zähflüssigen Balsam mit verschiedenen Oelen (Terpentin, Eucalyptus-, Lavendel-, Cedernöl) oder mit Chloroform, Xylol, Benzin. Bei Anilinfärbungen ist Chloroform zu vermeiden, man löst besser in Xylol. Martinotti empfiehlt Canadabalsam in Lavendelöl.[1])

Damarharz[2]) löst sich in Chloroform, Benzin, Xylol, Terpentinöl. Es trocknet sehr langsam und bricht das Licht weniger stark als Canadabalsam. Darum eignet es sich mehr für Erhaltung feiner Strukturbilder. Ausgesuchter Damar wird in der Wärme gelöst und warm filtrirt.

Nach van Heurck[3]) hat der Styrax in Chloroform vor Canadabalsam den Vorzug, dass er mit dem Alter sich nicht färbt. Liquidambar[4]) in Benzin und Alkohol gelöst soll ihn noch durch höheren Brechungsindex übertreffen.

[1]) Essenee d'aspic rectifiée bei Duroriez, Paris.

[2]) Im Damarharz bildet sich nach einiger Zeit eine Trübung. Sie soll vermieden werden, indem man 4 Theile Damar in 8 Theilen Benzin löst. Es entsteht nach einigen Tagen ein Niederschlag. Man decantirt und fügt etwas Terpentin zu. Hat sich die Damarlösung getrübt, wird sie bis 50—80 % eine Zeit lang im Brütofen erwärmt und warm durch ein mit Chloroform befeuchtetes Filtrirpapier filtrirt. Martinotti, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 4, 1887, S. 156, empfiehlt Damar in Xylol und Terpentin zu gleichen Theilen in der Wärme zu lösen und warm zu filtriren.

[3]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. 2, 1885.

[4]) Von Rousseau, Paris (Société anonyme de fabrications de produits chemiques etc., 42—44 rue des Ecoles), zu beziehen.

Kolophonium in Alkohol gelöst fand wegen seiner Eigenschaft, zarte Strukturen gut zu conserviren, schon wiederholt (Thierseh, Frey) als Einschlussmasse Anwendung.

Neuerdings wird dasselbe in Verbindung mit dem Terpentin als venetianischer[1]) Terpentin wieder von Vosseler[2]) empfohlen.

Venetianischer Terpentin wird mit Alkohol von 96 % zu gleichen Theilen innig in einem hohen Glase gemischt und durch Papier gegen Staub geschützt. In der Wärme (Paraffinofen) fallen die Unreinigkeiten bald zu Boden, und der Balsam ist ohne Filtration dann zu gebrauchen, ohne vorherige Aufhellung der Präparate mit irgend einem Oele. Mit Ausnahme von Wasser und Glycerin mischt sich der Balsam leicht mit Alkohol von 90 %. Da der venetianische Terpentin nicht so zähklebrig ist wie Canadabalsam, ist seine Anwendung viel angenehmer. Er hat jedoch den Nachtheil, dass er nur langsam erhärtet.

Für pathologische Untersuchungen, insbesondere für Präparate, die in Anilinfarben gefärbt sind, dürfte venetianischer Terpentin schon wegen seines Alkoholgehaltes sich weniger eignen.

Vorbereitung der Präparate zum Harzeinschluss.

Die Präparate werden zuerst entwässert. Zu diesem Zweck kommen sie in 96procentigen oder absol. Alkohol, Celloidinpräparate nur in ersteren, der auch für die meisten Fälle ausreicht. Das Falten der Schnitte bei der Uebertragung in Alkohol, besonders aus Wasser in absoluten Alkohol, wird verhütet, wenn man sie erst glatt auf dem Spatel ausgebreitet in Alkohol taucht und erst, nachdem sie in Alkohol etwas erhärtet sind, von dem Spatel löst.

Sie verweilen einige Sekunden bis 10 Minuten, je nach der Grösse, unter mehrmaligem Hin- und Herschwenken in dem Alkoholschälchen, welches, damit kein Wasser aus der Luft aufgenommen wird, für gewöhnlich verschlossen zu halten ist.

Da sich Alkohol nicht sofort mit Harzen mischt, werden die Präparate mit einem Stoff durchtränkt, welcher leichter mit Alkohol eine Mischung eingeht, mit Xylol, Toluol, ätherischen Oelen, Kreosot und Carbolsäure. Sie brechen das Licht stärker als Alkohol und hellen darum das Präparat auf.

Xylol macht die Präparate etwas schrumpfen. Es löst das Paraffin der Paraffinschnitte.

Von ätherischen Oelen werden Cedernholzöl, Origanumöl, Nelkenöl, Bergamottöl, Lavendelöl, Terpentinöl gebraucht. Von diesen ist das erstere das brauchbarste.

---

[1]) Wird aus der Lärche gewonnen und besteht aus ätherischem Oel (Terpentin) und Harz (Kolophonium).

[2]) Vosseler, Venetianisches Terpentin als Einschlussmittel für Dauerpräparate. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 6, Heft 3, 1889, S. 292.

Cedernholzöl greift Anilinfarben nicht an, hellt aber Celloidinpräparate langsam auf.

Origanumöl greift Anilinfarben etwas an, besonders die dunklere Oelsorte.

Nelkenöl greift Anilinfarben an, löst Celloidin und hat darum nur beschränkte Anwendung.

Borgamottöl ist nicht ganz indifferent, hellt leicht auf, löst Celloidin nicht und genügt für weniger empfindliche Präparate.

Das Terpentinöl macht das Präparat etwas brüchig. Findet für sich allein als Aufhellungsmasse bei durchgefärbten und paraffinisirten Präparaten Anwendung. Man schmilzt das Paraffin der aufgeklebten Schnitte im Wärmekasten, spült das Paraffin mit Terpentin ab und schliesst in Canadabalsam oder Damar ein.

Kreosot und Carbolsäure mischen sich wohl mit Alkohol, sind aber durch ihren Geruch unangenehm.

Ist das Präparat nicht vollständig entwässert, so zeigen sich bei auffallendem Licht in demselben weisse Stellen. In diesem Falle bringt man es wieder in Alkohol zurück, um es nach einigen Minuten aufs Neue in das Oel zu übertragen. Ist die Durchtränkung vollständig, so überträgt man den Schnitt auf den Objektträger und breitet ihn glatt aus. Um sich von der vollständigen Aufhellung zu überzeugen, betrachtet man mit schwacher Vergrösserung.

Sind bei durchfallendem Lichte keine dunkeln (wasserhaltigen) Stellen mehr zu erkennen, ist das Präparat also vollkommen aufgehellt, so wird das überschüssige Oel mit Fliesspapier aufgenommen, indem man einen Streifen desselben an das Präparat andrückt oder mit demselben vom Rande her das Oel aufsaugt. Das Präparat darf bei dieser Procedur nicht vollkommen trocknen. Hierauf wird ein Tröpfchen der Einschlussmasse auf oder an dasselbe gebracht und das Deckgläschen aufgelegt. Zur Compression des Präparates werden kleine Flintenkugeln auf das Deckgläschen gesetzt.

Luftblasen sind durch Druck oder leichtes Erwärmen zu beseitigen. Dringt beim allmählichen Trocknen der Harzmasse Luft ein, so wird vom Rande des Deckglases noch etwas Einschlussmasse zugegeben.

Der Gang der Operation für einen zu färbenden und in Harz einzulegenden Schnitt ist folgender:

1. Färben,
2. Auswaschen, für gewöhnlich in destillirtem Wasser, Abtrocknen,
3. Uebertragen des Schnittes mit dem Spatel in Alkohol von 96 % 3—8 Minuten für gewöhnlich,
4. Uebertragen des Schnittes auf dem Spatel in Alkohol absol. 3—8 Minuten,
5. Abtropfen des Alkohols oder Aufsaugen desselben,
6. Uebertragen in Oel oder Xylol 5 Minuten,
7. Ausbreiten auf dem Objektträger,

8. Absaugen des Oels mit Fliesspapier,
9. Canadabalsam, Bedecken mit Deckglas.

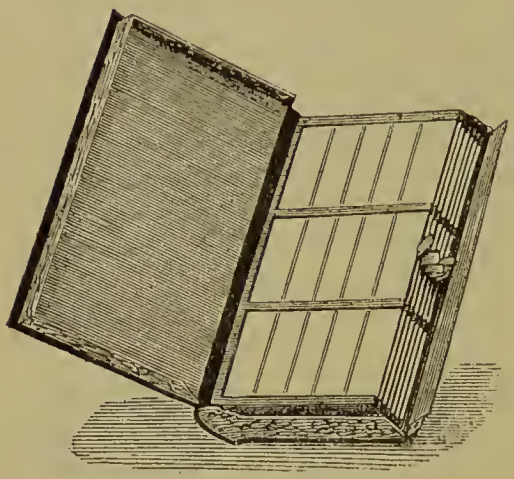

Fig. 46.

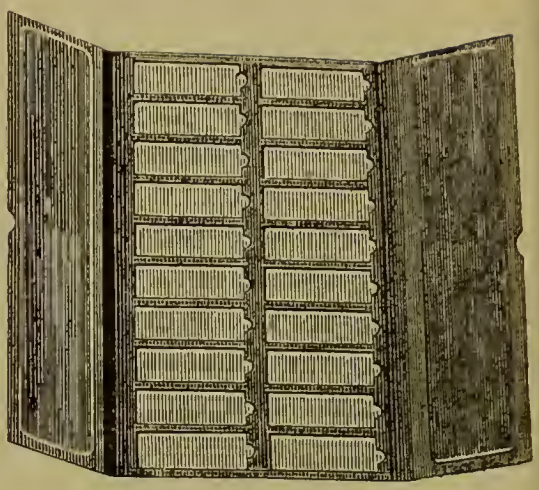

Fig. 47.

Präparatenkästen in Tafelform.

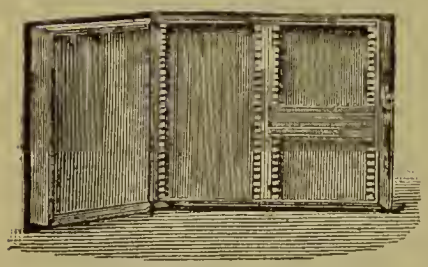

Fig. 48.

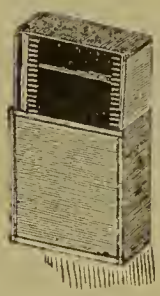

Fig. 49.

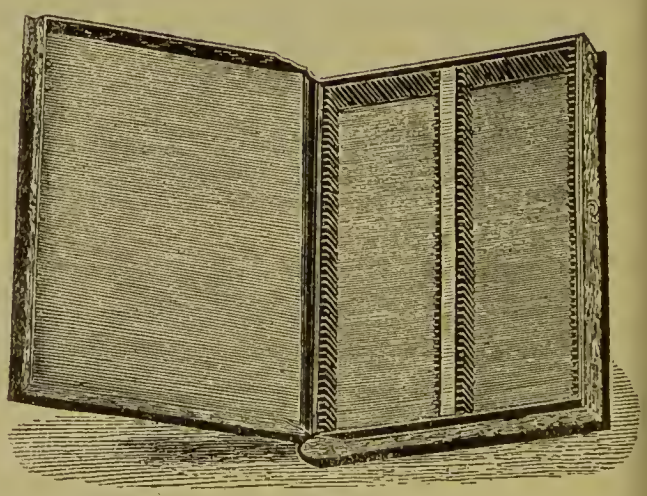

Fig. 50.

Präparatenkästen in Etuisform

Will man die Präparate nicht conserviren, beschränkt man sich auf die Untersuchung in Oel.

Einschluss in Luft für Zahn-, Knochenschliffe und Bluttrockenpräparate. Man umrandet das Deckplättchen, nachdem man es an den vier Ecken mit Wachströpfchen fixirt hat, mit Wachs. Hierzu bedient

man sich eines Wachsstockes. Man zündet den Docht an, löscht ihn wieder, erwärmt ihn in der Flamme und indem man ihn nach unten hält, kann man wie mit einem Pinsel das flüssige Wachs auf den Rand des Deckplättchens und den Objektträger aufstreichen.

Auch mit etwas zähem Lack lässt sich in der früher angegebenen Weise (s. Umrandung und Einbettung) das Deckglas befestigen.

Sammeln der Präparate. Für grössere Präparatensammlungen empfehlen sich die Pappkästen, welche in verschiedenen Grössen bei Th. Schröter, Leipzig, Grosse Windmühlenstrasse 37, zu haben sind. Am geeignetsten sind jene, in denen die Objektträger nicht stehen, sondern liegen, schon der Uebersichtlichkeit wegen (Pappkästen in Tafelform).

Man unterlasse nicht die genaue Etikettirung der Präparate. Hierfür werden sowohl einfache Papieretiketten, wie solche von weissem Carton gebraucht. Letztere, welche zugleich als Schutzleisten dienen, gestatten, die Präparate aufeinander zu legen. Solche Schutzleisten sind denen aus Glas vorzuziehen, weil sie zugleich die Etiketten ersetzen. Zum Aufkleben der Etiketten und der Schutzleisten dient guter Gummi, Syndetikon (Fischleim) oder weisser Schellack.

Syndetikon zieht in feuchter Luft Wasser, und sein Säuregehalt greift die Tinte an.

Vosseler[1]) empfiehlt an dessen Stelle als guten Schutzleistenkitt weissen Schellack. Dieser wird gut zerstossen und mit 90—96procentigem Alkohol übergossen, bis er davon bedeckt ist. Auf dem Ofen wird diese Mischung in wenigen, bei Zimmertemperatur in 12—20 Stunden zu einer syrupösen Masse. Die aufzuklebenden Etiketten dürfen nicht gummirt sein. In einer Stunde ist der Kitt trocken. Leichtes Erwärmen des Glases begünstigt sein besseres Haften.

---

13. Kapitel.

Messen. — Zeichnen. — Malen. — Camera lucida.

Messen.

Wir können ein Objekt messen, indem wir es auf einen Objektivmikrometer legen und nun die Theilungen zählen, welche es einnimmt.

Diese Art der Messung hat jedoch manche Nachtheile. Wir brauchen mehrere dieser Messapparate, beim Reinigen leiden die feinen eingeritzten Linien und werden auch leicht durch das aufliegende Objekt unkenntlich. Wir benutzen darum jetzt ausschliesslich den Ocularmikrometer, welcher zwischen dem Collektivglas und der Okularlinse angebracht ist.

[1]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. VII, 1890, S. 457.

Der Werth des Okularmikrometers ist jedoch kein absoluter und zum Theil abhängig von der Vergrösserung der über ihm stehenden Okularlinse, der Länge der Mikroskopröhre etc. Wir müssen darum erst denselben für die verschiedenen Linsensysteme und die verschiedene Länge der Mikroskopröhre bestimmen, und dies geschieht mit Benutzung eines Objektivmikrometers. Ist z. B. auf diesem der Millimeter in 20 Theile zerlegt, und wir sehen, dass bei einem bestimmten Linsensystem 5 Theile des Okularmikrometers einen Raum des Objektivmikrometers, der also 0,05 mm entspricht, ausfüllen, so wissen wir, dass ein Zwischenraum des Okularmikrometers für jenes System 0,01 mm beträgt. Die Maasseinheit für mikroskopische Grössenverhältnisse ist $^1/_{1000}$ Millimeter, Mikromillimeter oder Mikron μ.

Zeichnen.

Jeder Mediziner, der Mikroskopiker vor Allem, sollte im Zeichnen unterrichtet sein. Er wird sonst in ein sehr unangenehmes Abhängigkeitsverhältniss gerathen und in seinen Arbeiten vielfach gehindert sein. Eine Zeichnung ist ja oft rascher ausgeführt, als eine Beschreibung zu Papier gebracht wird und sagt oft mehr als diese. Bei dem Versuch, von den gesehenen Gegenständen eine Zeichnung zu entwerfen, gewöhnt sich insbesondere der Anfänger daran, aufmerksam zu betrachten und zu beobachten, und schon aus diesem Grunde sollten die jungen Studirenden angehalten werden, einfache Bleistiftzeichnungen von den untersuchten mikroskopischen Objekten anzufertigen. Zudem haben wir es ja in sehr vielen Fällen mit verhältnissmäsig einfachen Gegenständen zu thun, deren Darstellung im Umrisse technisch nicht schwer ist und bald erlernt werden kann.

Für einfache Zeichnungen reicht stärkeres, nicht zu glattes Schreibpapier vollkommen aus. Für complicirtere Zeichnungen, bei deren Ausführung Correkturen nicht zu vermeiden sind, empfiehlt sich Watmannsches und Bristol-Papier, und zwar die glatte oder nur fein gekörnte Sorte.

Von Bleistiften sind die Patentstifte (in einer Hülse) die einzig brauchbaren, weil sie einen vollkommenen Schutz der Bleispitze bieten. Der Mikroskopiker braucht durchweg die harten Nummern, für feine Conturen insbesondere sehr harte. Zum Schreiben findet eine weichere Sorte (II) Verwendung. Die Bleistifte müssen sehr spitz sein. Das Spitzen derselben schreckt den Anfänger oft von der fleissigen Benutzung des Bleies ab und ist doch bei den Patentstiften ohne jede Beschmutzung der Finger leicht ausführbar. Man bedient sich dazu kleiner Blöcke von amerikanischem Glaspapier[1]), die in verschiedenen Grössen und verschiedener Stärke in allen Handlungen von Zeichnungsmaterialien zu haben sind. Durch Hin- und Herziehen des Bleies auf dem groben Schmirgelblatt er-

[1]) Improved Lead-Pencil-Pointer.

hält dasselbe die erste Spitze. Darauf wird die gleiche Procedur auf einem feinkörnigen Glaspapier wiederholt und endlich die letzte, feinste Spitze durch Reiben auf einem stärkeren feinkörnigen Papier (Visitenkarte) angeschliffen. Besser noch als Glaspapier ist künstlicher Bimstein, den ich seit lange ausschliesslich benutze. Er ist von feinem Korn, bietet eine grössere Fläche und liegt fest. Man stellt denselben in ein Kästchen aus Carton. Weniger vortheilhaft sind die Bleistiftfeilen.

Das Zeichnen wird wesentlich erleichtert durch einen passenden Zeichentisch.[1]) Ich benutze dazu ein auf zwei Leisten horizontal befestigtes Brett, welches bis an die Platte des Objekttisches reicht. Es ist viel bequemer, einen solchen Tisch von einer Grösse zu wählen, dass er ausser für das Papier zum Zeichnen auch noch Raum für den Arm und

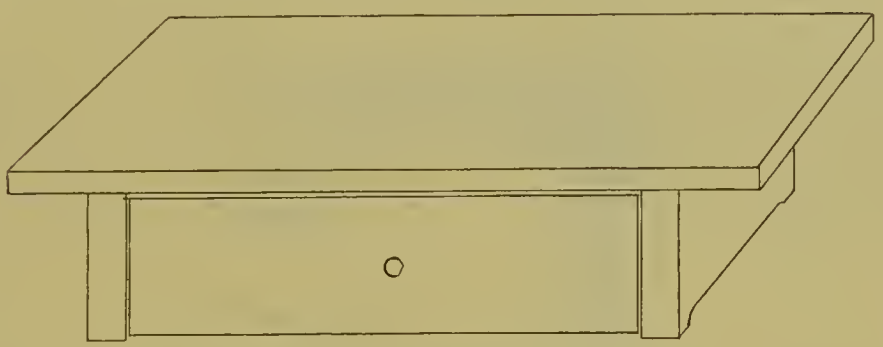

Fig. 51.
Zeichentischchen.

allerlei Gegenstände bietet und auch zu anderen Arbeiten (bei Anfertigung von Präparaten) benutzt werden kann. Unter der horizontalen Platte des Tisches befindet sich ein Kästchen für Zeichnungsmaterial.

Links vom Zeichentisch, der leicht transportabel ist und auf dem grösseren Arbeitstisch seinen Platz findet, steht das Mikroskop, und links von diesem liegt ein etwas dickeres Buch zur Stütze des linken Arms.

Rechts vom Tisch steht in einem Kästchen ein Stück künstlicher Bimstein oder ein Block Glaspapier zum Spitzen des Bleistifts.[2])

Um einen Grundton herzustellen, bedient man sich eines Wischers aus Papier oder Leder. Man taucht denselben in etwas Graphitpulver und vertheilt dieses durch Reiben über die zu deckende Fläche. Den gleichen Effect erreicht man mit Tusche. Weitere Details in der grun-

[1]) Mein Zeichentisch ist 10 cm hoch, 60 cm lang und 40 cm tief.

[2]) Ueber Zeichentische vergleiche:
Bernard, Ein Zeichentisch für mikroskopische Zwecke. — Zeitschrift für Mikroskopie. Bd. IX, Heft 4. 1893.
Giesenhagen, Ein Zeichenpult für den Gebrauch am Mikroskop. — Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VII. 1890, p. 169.

dirten Fläche, z. B. Körnchen, Fäscrchen, werden später mit Blei oder Zeichenfeder eingetragen.

Statt des Bleis kann man auch häufig die Zeichenfeder gebrauchen und mit dieser je nach der Stärke der benutzten Tusche sehr zarte Töne erzielen. Doch können Federzeichnungen, was die Zartheit der Töne betrifft, nur selten Zeichnungen mit Blei und Tusche ersetzen.

Die Zeichenfeder findet insbesondere Anwendung bei Zeichnungen, welche für die Zinkographie bestimmt sind.[1]) Man benützt flüssige, tiefschwarze Tusche, welche in allen grösseren Handlungen von Zeichnungsmaterialien zu haben ist.

Malen.

Farben hat der Mikroskopiker, insbesondere derjenige, welcher sich mit pathologischer Histologie beschäftigt, nur wenig nöthig. Aber diese wenigen erleichtern die bildliche Darstellung doch wesentlich. Ein Stückchen gutes Karmin, Berlinerblau, Gummigutt, gebrannte Terra di Sienna und gute chinesische Tusche sind unentbehrlich. Man reibt etwas von diesen Farben auf einer kleinen Porzellanpalette oder Porzellanteller an, um sie stets bereit zu haben.

Camera lucida (Zeichenapparat).

Auch der geübte Zeichner wird sich Zeit ersparen durch Benutzung der Camera lucida, wenn diese auch nur „zum Anlegen der Zeichnung", d. h. für Ausführung der Umrisse, zu gebrauchen ist. Ich bediene mich fast nur der Camera lucida von Oberhäuser.

Diese Camera lucida ist ein mit zwei Prismen versehenes Okular, welches an Stelle des eigentlichen Okulars gebracht und an der Mikroskopröhre durch eine kleine Schraube befestigt wird. Ueber dem senkrecht stehenden Schenkel des Apparats befindet sich ein Prisma und vor diesem im horizontalen Schenkel das Okular mit der Kollektive und Linse. In einiger Entfernung von dieser ist ein kleines Prisma angebracht. Die Lichtstrahlen gelangen durch das erste Prisma und Okular in das kleine Prisma, wo sie in das Auge des Beobachters reflektirt und auf das horizontal liegende Papier projicirt werden. Das Auge blickt durch einen das kleine Prisma bedeckenden Ring auf das unterliegende Papier, wo es das mikroskopische Bild sieht, das in seinen Umrissen gezeichnet werden kann.

Um ein deutliches Bild des Bleistiftes zu sehen, muss die Beleuchtung sorgfältig regulirt werden und das zu bezeichnende Blatt in der Höhe des

---

[1]) Gute Zeichenfedern sind oft sehr schwer zu erhalten. Ich kann aus eigener Erfahrung die Feder No. 515, C. Brandauer & Comp., Birmingham, bei Schönfeld in Düsseldorf zu haben, bestens empfehlen.

Mikroskoptisches liegen. Bei allen Zeichenapparaten erscheinen Bild- und Zeichenfläche auf einander projicirt. Da beide Lichtflächen sich gegenseitig bedeutend abschwächen, wird bei ungleicher Lichtintensität (was gewöhnlich der Fall ist) die lichtstärkere die lichtschwächere überstrahlen, undeutlich machen oder ganz unterdrücken. Will man also die Zeichenfläche und den zeichnenden Stift einerseits und das mikroskopische Bild andererseits zu gleicher Zeit deutlich sehen, so muss man die Lichtintensität beider gleich machen, und man erreicht dies, indem man entweder die lichtschwächere Fläche stärker erleuchtet oder die lichtstärkere dämpft. Bei starker Vergrösserung, wenn es sich um Abbildung dunkler Präparate oder Theile solcher handelt, ist die Helligkeit der Zeichenfläche demnach zu verringern. Ich stelle zu diesem Zweck ein Blatt Pauspapier oder je nach Bedarf ein Blatt anderen, dünnen Papiers vor die Zeichenfläche. Um bei schwachen Vergrösserungen die Bleistiftspitze deutlich zu sehen,

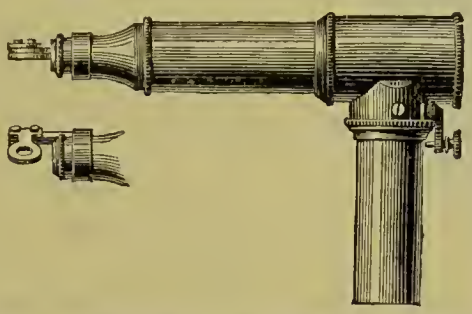

Fig. 52. Camera lucida von Oberhäuser-Hartnack.

muss die Zeichenfläche ebenfalls gleich hell wie das mikroskopische Feld sein. Man wird also das Licht der Bildfläche abschwächen. Durch wechselnde Beschattung kann man sich das Zeichnen auch hier sehr erleichtern. Sehr gute Dienste leistet bei Benutzung der Camera lucida eine geschwärzte Blendscheibe (Fig. 8, S. 14),

Bei anderen Zeichenapparaten (Kohl, Becker, Zeiss, Winkel) wird das Bild durch einen unter 45° geneigten Spiegel auf die horizontale Tischfläche neben das Mikroskop projicirt.

Die Abstimmung der Helligkeit des Objektbildes und der Zeichenfläche hat Winkel[1]) durch eine zwischen Prismen und Spiegel eingeschaltete drehbare Scheibe bewerkstelligt, in der sich 5 Oeffnungen befinden, von denen drei 3 verschiedene Abstufungen von Rauchglas, die vierte ein bläuliches Glas besitzt, die fünfte aber frei ist.

Der neue Abbé'sche Zeichenapparat unterscheidet sich von dem früheren und dem oben erwähnten von Winkel dadurch, dass er ausser einer Vorrichtung, um das Licht der Zeichenfläche abzudämpfen, auch eine solche für die mikroskopische Bildfläche besitzt. An Stelle der

[1]) Henking Winkel's neuer Zeichenapparat.

früheren 2 Rauchgläser sind 2 runde Scheiben, jede mit 4 Rauchgläsern in verschiedener Abstufung, getreten, und unterhalb des Prisma befindet sich noch eine dritte Dämpfungsvorrichtung für die mikroskopische Bildfläche — eine horizontale Drehscheibe mit 4 Oeffnungen, von denen drei durch Rauchgläser geschützt, die vierte aber frei ist, um den Lichtstrahlen aus dem Mikroskop freien Durchtritt zu lassen. Diese 3 Scheiben ermöglichen viele Combinationen, von denen man rasch die passende aussuchen kann.

Der Abbé'sche Apparat dürfte demnach wohl der vollkommenste sein.[1])

Edinger's[2]) Zeichenapparat für schwache Vergrösserungen besteht aus einer horizontalen Platte, die zugleich als Zeichentisch dient, und einem auf dieser befestigten Stativ, welches eine horizontale Röhre trägt, die durch eine Sammellinse und an dem Ende, welches dem Beschauer zugekehrt ist, durch einen in einem Winkel von 45° stehenden Spiegel geschlossen ist. Die Strahlen einer Lampe werden durch die Linse auf den Spiegel concentrirt. Durch eine Oeffnung unter dem Spiegel fällt das Licht nach abwärts auf einen am Stativ befestigten Objekttisch, der ebenso wie ein unter ihm angebrachter Lupenhalter verschiebbar ist. Es entsteht so ein objektives Bild des Objektes auf der Tischplatte. Je nach der Stellung von Lupe und Tisch zur Zeichenfläche kann man Vergrösserungen von 2—20 erhalten. Auch können die Schnitte in natürlicher Grösse gezeichnet werden. Um nicht alle Vergrösserungen nur durch Verschieben zu erzielen, wird das Instrument mit 3 Lupen ausgestattet.

Dasselbe ist von dem Optiker Leitz in Wetzlar und von Hartnack in Potsdam zu 50 und 65 Mk. zu beziehen.

14. Kapitel.

Mikrophotographie.

I. Allgemeines. Der mikrophotographische Apparat.

Von allen Methoden, mikroskopische Bilder zu reproduciren, ist die Mikrophotographie, welche die Bilder, die das Mikroskop liefert, auf einer lichtempfänglichen Platte auffängt, um daraus zunächst ein sogenanntes Negativ herzustellen, das einzige Verfahren, welches den Anspruch auf vollkommen naturwahre Wiedergabe erheben darf. Sie wird demzufolge da in Anwendung gezogen, wo es gilt, völlig untrügliches, einwandsfreies Beweis-

[1]) Bernhard, Neue Modifikation des Abbé'schen Zeichenapparates. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikroskopische Technik. Bd. VIII. 1891, S. 291.

[2]) Edinger, Ein neuer Apparat zum Zeichnen schwacher Vergrösserungen. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII. 1891.

material zu beschaffen. Freilich muss hervorgehoben werden, dass nicht Alles, und nicht Alles so, wie wir es unter dem Mikroskop zu sehen gewohnt sind, auf der photographischen Platte veranschaulicht wird. Während nämlich durch Drehungen der Mikrometerschraube in rascher Aufeinanderfolge die verschiedensten Ebenen eines Objektes für die beobachtende Netzhaut scharf eingestellt, und durch einen psychischen Akt zu einem einheitlichen Bilde verschmolzen werden, welches infolgedessen eine unter Umständen recht bedeutende körperliche, d. h. Tiefenwahrnehmung ermöglicht, muss sich die Mikrophotographie damit begnügen, nur diejenige Ebene im Objekt wiederzugeben, auf welche scharf eingestellt ist. Alle höher sowie tiefer gelegenen Partien erscheinen verschwommen und unscharf. Je dünner also und zarter das zu photographirende Objekt ist, desto freier von störenden, weil unscharfen Nebendingen wird die Reproduktion.

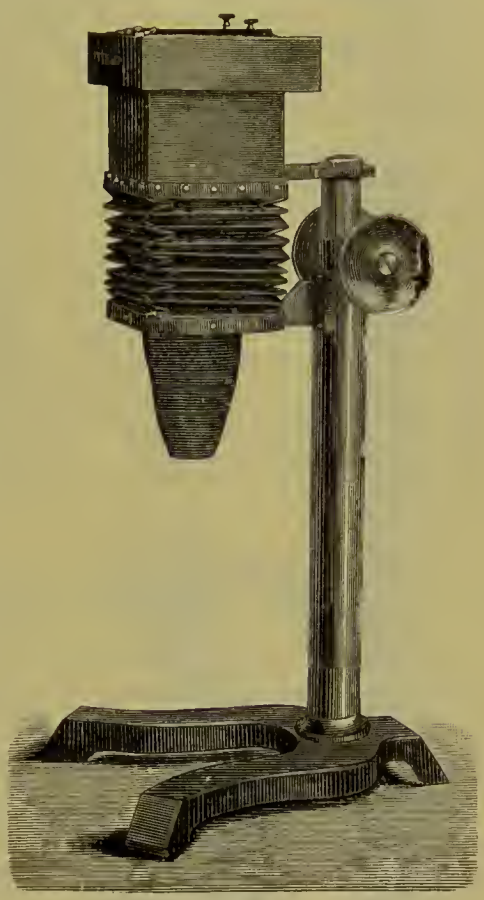

Fig. 53.
Kleiner vertikaler Apparat nach Seibert.

Eine zweite Vorbedingung für die Anfertigung von guten Mikrophotographien ist die entsprechende Färbung der Präparate. Da für die lichtempfindlichen Platten Blau die meisten chemisch wirksamen Strahlen besitzt, Roth und Gelb dagegen nahezu unwirksam sind, kann es z. B. vorkommen, dass bei Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin die blauen, dem Auge dunkel erscheinenden Theile auf dem Bilde hell werden, die hellroth aussehenden dagegen dunkel. Jedoch lässt sich diese aus der Färbung herrührende Schwierigkeit auf später zu erörternde Weise beseitigen (ortho-chromatische Platten).

Um nur mit wenigen Worten die Theorie der mikrophotographischen Bilderzeugung zu besprechen, so sei daran erinnert, dass das zusammengesetzte Mikroskop reelle Bilder giebt, d. h. solche, welche sich auf einem Schirm resp. einer lichtempfindlichen Platte auffangen lassen. Die letztere kann 1) entweder dort angebracht werden, wo sich das vom Objektiv allein erzeugte Bild befindet, oder 2) fängt sie das von Okular und Objektiv gemeinsam gelieferte Bild auf oder 3) lässt man das durch Okular und Objekt erzeugte Bild nochmals eine photographische Linse

passiren und erzielt mit deren Hülfe das Photogramm. Im ersteren Falle werden nur sehr kleine Bilder erhalten, die dann noch einer umständlichen Vergrösserung bedürfen; im letzteren wieder wird der Besitz einer besonderen photographischen Linse vorausgesetzt.

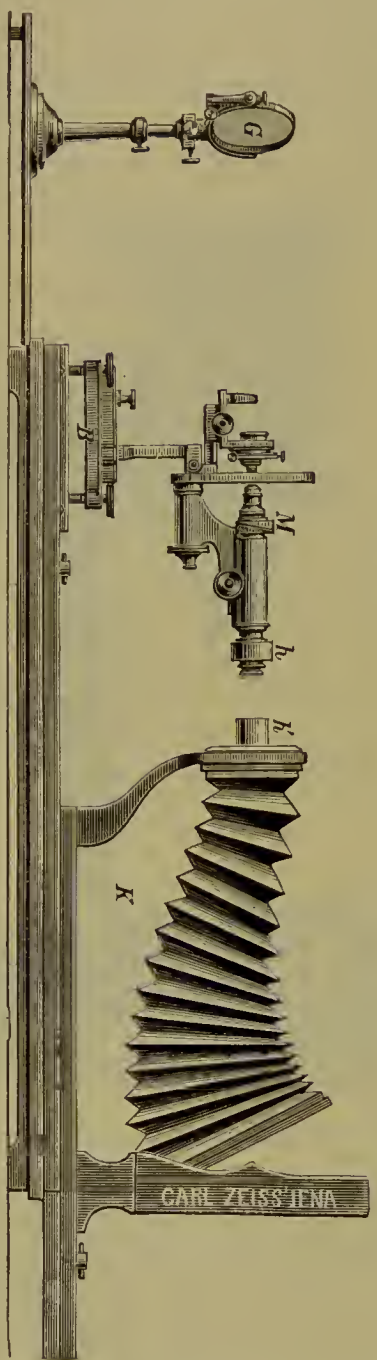

Fig. 54.
Zeiss' kleiner mikrophotographischer Apparat nach Francotte.

Diese ist entbehrlich und die Bilder erhalten jede gewünschte Grösse, wenn ein Mikroskop mit Objektiv und Okular benutzt und mit einer photographischen Kammer verbunden wird. Der mikrophotographische Apparat besteht also im Wesentlichen aus zwei Theilen: 1) dem Mikroskop, 2) der photographischen Camera.

Für die Aufnahme beweglicher flüssiger Objekte ist Vertikalstellung des Stativs erforderlich, bei allen festen Präparaten ist die horizontale Lage, weil sie für das Arbeiten bequemer ist, erwünscht. Ein jedes gute Mikroskop mit umlegbarem Oberkörper ist für unsere Zwecke ausreichend.

Die photographische Camera besteht aus einem lichtdichten Kasten mit einem Balg von veränderlicher Länge, welcher an seiner vorderen Seite mit dem okularen Ende des Tubus lichtdicht verbunden wird und hinten die „Visirscheibe" trägt, auf welcher das Bild projicirt wird. An Stelle der Visirscheibe wird nach Regulirung der Beleuchtung, scharfer Einstellung u. s. w. eine lichtdichte „Kassette" gebracht, welche die lichtempfindliche Platte enthält; die letztere wird dann nach Entfernung eines Schieberdeckels „exponirt".

Fig. 53 zeigt einen vertikal stehenden Apparat: Seibert's kleiner mikrophotographischer Apparat. An einem festen Dreifussstativ mit vertikaler Säule ist eine kleine Camera mit kurzem Balgauszug befestigt; das Mikroskop findet seinen Platz zwischen den Füssen des Stativs. Die lichtdichte Verbindung vermittelt ein Conus aus schwarzem Tuch.

In Fig. 54 ist ein horizontaler Apparat: Zeiss' kleiner mikrophotographi-

scher Apparat nach Francotte abgebildet. Die horizontale Camera *K* von 60 cm Balglänge ist auf einem starken Brett verschiebbar befestigt. Das Mikroskop *M* auf einer Metallplatte *B* mit Schrauben montirt; die Verbindung von Camera und Stativ geschieht so, dass das Ansatzstück *h'* der Stirnwand der Camera auf den Cylindor *h* am Mikroskoptubus geschoben wird. *G* ist ein Planspiegel. Der Apparat reicht trotz seiner geringen Grösse für die Mehrzahl der mikrophotographischen Arbeiten aus. Werden stärkste Vergrössorungen nöthig, so bedient man sich der grossen mikrophotographischen Apparate, wie sie u. a. Hartnack, Seibert, Reichert, C. Zeiss liefern, von denen derjenige von Zeiss (Fig. 55 und 56) eingehender beschrieben werden soll.

Ein Hauptvorzug desselben ist die getrennte Aufstellung von Mikroskop und Camera auf besonderen Tischen; ein weiterer die Möglichkeit der senkrechten Stellung des vorderen Theils der Camera, um auch zur Aufnahme flüssiger Objekte (Reinkulturen u. dergl.) zu dienen; endlich kann der Apparat ohne die Camera unmittelbar als Projektionsapparat verwendet werden. Auf dem das Mikroskop *M* tragenden Tische befindet sich eine sogenannte optische Bank *D* mit Blendungsträgern (*E* und *F*), einem nach allen Richtungen verstellbaren Planspiegel, einem Küvettenständer (*H*) zur Aufnahme mit Sonnenlicht, sowie einer elektrischen Bogenlampe mit den nöthigen optischen Behelfen behufs Benutzung elektrischen Lichtes. Bei Drehung des Stabes *a* wird die Mikrometerschraube durch eine Zahnschraube bei weitem Cameraauszug (bis 150 cm) beliebig gedreht (Hooke'scher Schlüssel). Die Camera ist für die Bildgrösse 24×24 cm eingerichtet; Einlagen in die Kassetten gestatten aber auch die Verwendung beliebiger kleinerer Formate.

2. Die Handhabung des mikrophotographischen Apparates.

Der Apparat soll an einem Orte aufgestellt werden, welcher den Bodenerschütterungen, durch vorüberfahrende Wagen z. B, möglichst wenig ausgesetzt ist. Dass die Camera ebenso wie das Mikroskop durch feste Verschraubung an ihrem jeweiligen Platze muss festgehalten werden können, ist selbstredend. Die erste Bedingung zur Erzielung eines guten Photogramms ist die scharfe Einstellung des Präparates. Es geschieht dies in gewöhnlicher Weise durch Benutzung der groben Tubus- und der feinen Mikrometerschrauben. Dieses mikroskopische Bild auf der Visirscheibe zu projiciren, ist nun die nächste Aufgabe, zu deren Lösung Mehreres beizutragen hat, und zwar vor Allem die Anordnung der Beleuchtung des Objektes.

Als Lichtquelle ist sowohl Sonnen- und Tageslicht zu benutzen, als auch jedes künstliche Licht, das für die Platte genügende Intensität besitzt. Da direktes Sonnenlicht häufig fehlt, sehen wir hier von der Verwendung desselben ganz ab, zumal da durch diejenigen künstlichen Lichtquellen, welche jederzeit zu Gebote stehen, vollkommen gute Resultate zu erzielen sind. Allerdings wird beim Lichte einer Petroleumlampe die Dauer der Exposition erheblich verlängert werden, wenn es sich um starke

Vergrösserungen (Immersion) handelt; allein das Aeusserste sind auch hier nur wenige Minuten; dafür gewinnt man die Möglichkeit, jede beliebige Tageszeit — das Vorhandensein eines verdunkelten Arbeitszimmers vorausgesetzt — benutzen zu können, und eine stets gleichbleibende Intensität der Belichtung zu besitzen, ein Vortheil, der zumal für den Anfänger in mikrophotographischen Arbeiten von Werth ist.

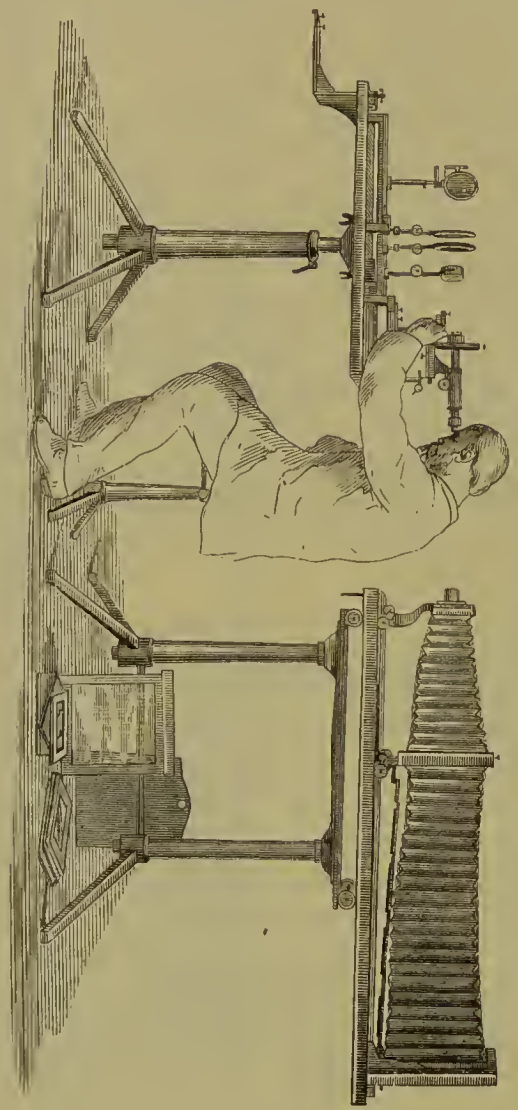

Fig. 55.
Zeiss' grosser mikrophotographischer Apparat. Einstellung am Mikroskop.

Das Licht wird entweder direkt auf das Objekt geworfen, oder erst, nachdem es durch Einschaltung einer matten Scheibe zerstreut worden ist. Zur Concentration benutzt man Sammellinsen, deren Stellung nach weiter unten zu erörternden Normen regulirt wird. Die bei Verwendung einer künstlichen Lichtquelle zweckmässige Anordnung und der Strahlengang (Fig. 57) ist folgender: Die Lichtquelle LL entwirft durch die Sammellinse c auf die Mattscheibe E ein Bild $e_1 e$. Sodann wird das vom Condensor erzeugte Bild der Stelle $e_1 e$ in die Objektebene O verlegt. Nun kann man die Mattscheibe entfernen und hat dann das von der Sammellinse erzeugte verkleinerte Luftbild der Lichtquelle in die Objektebene projicirt.

Die besten Resultate werden erzielt, wenn man das Bild der Lichtquelle möglichst scharf in die Objektebene projicirt. Nur bei ganz schwachen Vergrösserungen, z. B. mit Zeiss' Apochromat 75 mm, ist es vortheilhafter, das Lichtbildchen in die Mitte des Objektivs zu projiciren. Eine genaue Centrirung muss gleichzeitig bewirkt werden, so dass dann das ganze Gesichtsfeld gleichmässig erhellt ist. Ist das Bild der Lichtquelle zu klein, um den zu photographirenden Theil des Objektes zu be-

decken, so wird es durch Einschaltung einer feinen Mattscheibe diffus gemacht und nun die leuchtende Fläche der Mattscheibe scharf in die Ebene des Objektes geworfen.

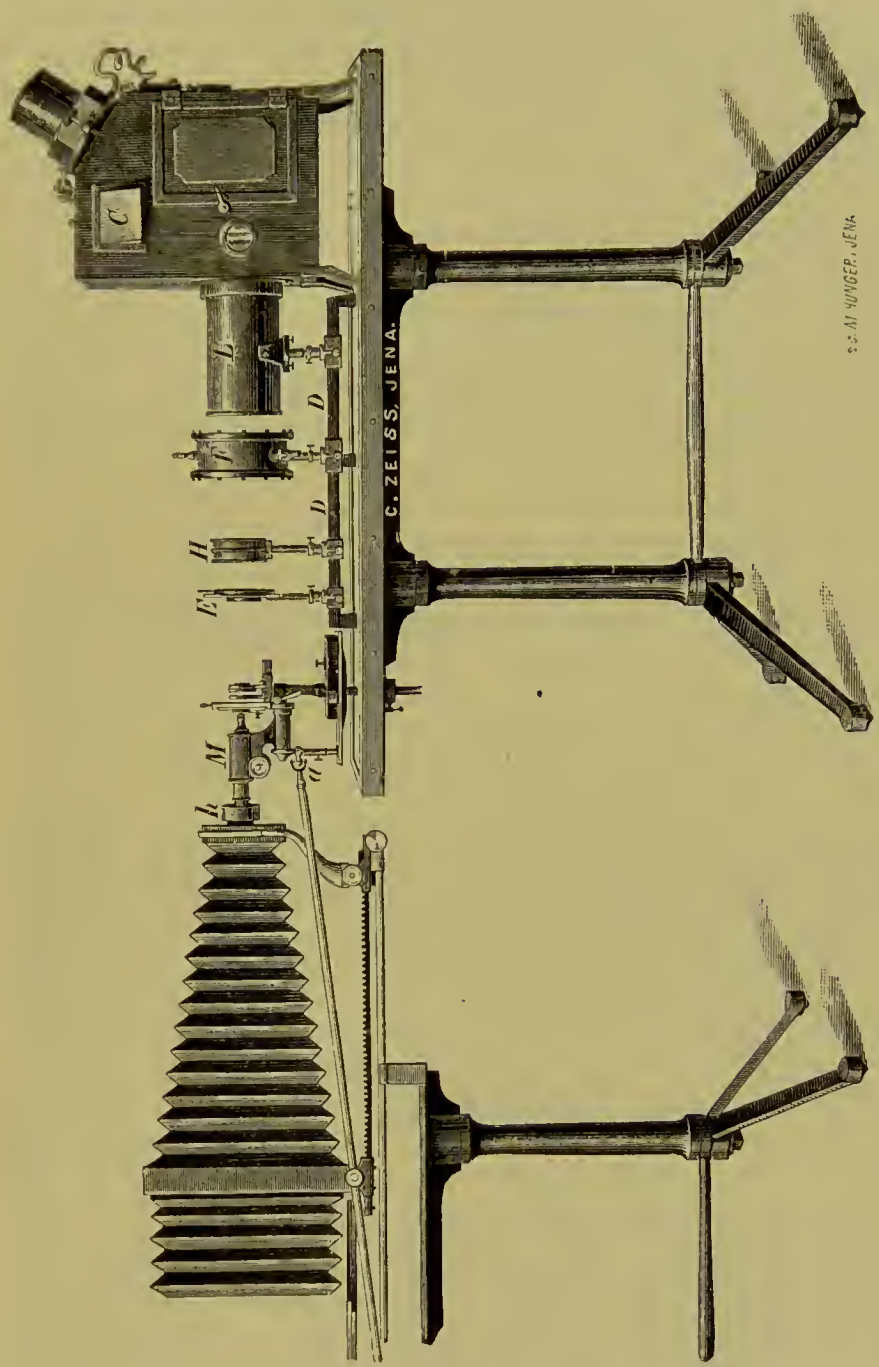

Fig. 56.
Zeiss' Grosser mikrophotographischer Apparat mit Bogenlampe: Der rechts stehende Tisch trägt die Lampe *L*, die optische Bank *DD* mit Alaunküvette *F*, Lichtfilter *H*, Küvette und Blendenständer *E*, sowie das Mikroskop *M*; *h* lichtdichte Verbindung; der Tisch links trägt die Camera und den Hooke'schen Schlüssel *a*.

Ein zweiter wichtiger Punkt ist der, alles Licht möglichst auf das Objekt zu concentriren, d. h. es soll möglichst nur diejenige Stelle des Präparates Licht erhalten, welche photographirt werden soll. Auf diese

Weise wird einmal sämmtliches Licht ausgenutzt, sodann aber auch vermieden, dass durch Beleuchtung nicht in das Bild fallender Gegenstände eine störende Wirkung auf das Bild selbst ausgeübt wird. Der Abbe'sche Condensor ist für geringe bis mittlere Vergrösserungen entbehrlich, für starke aber unerlässlich, und zwar wird er mit voller Oeffnung, d. h. ohne Blende zu gebrauchen sein, wo ein möglichst breiter Beleuchtungskegel erfordert wird, z. B. bei Bakterienaufnahmen.

Die Verwendung der Blenden hat genau so zu erfolgen, wie bei der mikroskopischen Beobachtung: Die für das jeweilig beobachtete Präparat günstigste Blende soll auch bei der photographischen Aufnahme benutzt werden. Nur ist zu beachten, dass zwar, je enger die Blende ist, desto schärfer die Einzelheiten heraustreten und desto weiter bis zum Rande hin das Bild scharf ausgezeichnet wird, damit aber zugleich die Intensität des Lichtes rasch abnimmt, und bei zu starker Abblendung die so störenden Diffraktionssäume leicht auftreten, welche die Conturen einhüllen und verschleiern.

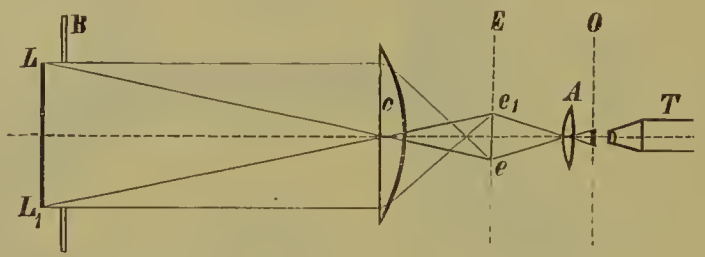

Fig. 57.

Eine direkte Wiedergabe des so gewonnenen Bildes würde noch verschiedenen Schwierigkeiten begegnen, die ihren hauptsächlichsten Grund darin haben, dass die mikroskopischen Linsen für andere Abstände zu wirken bestimmt und optisch corrigirt sind, als die Entfernung der Visirscheibe resp. lichtempfindlichen Platte. Daraus resultirt bei der Aufnahme eine ungenügende Präcision des Bildes. Ferner sind die mikroskopischen Objektive im Allgemeinen nicht so construirt, dass ihr optischer und chemischer Brennpunkt zusammenfallen; oder mit anderen Worten, derjenige Ort, an welchem das Bild für das Auge die grösste Schärfe besitzt, ist nicht zugleich derjenige, welcher für die lichtempfindliche Platte am meisten wirksam ist. Man hat diesem Uebelstande dadurch abzuhelfen gesucht, dass in den Strahlengang ein sogenanntes Lichtfilter eingeschaltet wurde, d. h. eine Küvette mit einer farbigen Flüssigkeit. Dadurch gewinnt man einfarbiges (monochromatisches) Licht. Als bestes Mittel zur Herstellung reinen blauen Lichtes dient eine Combination von zwei Küvetten, von denen die eine, concentrirte Kupferoxydammoniaklösung enthaltend (gewonnen durch Auflösung von Kupfervitriol in Ammoniak), nur die blauen, violetten und ultravioletten Strahlen durchlässt, während die

andere, mit Aeskulinlösung (15 : 1000) gefüllt, die ultravioletten Strahlen absorbirt.

Eine andere Methode, die „Fokusdifferenz“ auszuschalten, ist praktisch vielfach in Anwendung gezogen, seitdem die sogenannten orthochromatischen Platten weitere Verbreitung gefunden haben. Diese sind durch Zusatz von bestimmten Farbstoffen (Eosin, Erythrosin) für rothe, gelbe und grüne Strahlen empfindlich gemacht und werden unter Verwendung eines gelben Lichtfilters (160 gr Kupfernitrat, 14 gr Chromsäure auf 250 gr Wasser) belichtet.

Dass die Intensität der Beleuchtung durch Benutzung jeder absorbirenden Schicht eine oft recht erhebliche Einbusse erleidet, ist klar; damit steht in direktem Zusammenhange auch eine Verlängerung der Expositionsdauer, welche durchaus nicht erwünscht ist. Indessen tritt gerade bei der Beleuchtung mit Petroleum, dessen Flamme an aktinischen, blauen und violetten Strahlen arm ist, die störende Wirkung der Fokusdifferenz auch ohne Verwendung von Lichtfiltern nur wenig hervor.

Fast völlig verschwindet dieser Uebelstand bei den Apochromaten von Zeiss. Hier sind drei verschiedene Farben des Spektrums in einem einzigen Punkte der optischen Axe zur Vereinigung gebracht, also das sogenannte „sekundäre“ Spektrum der früheren achromatischen Linsensysteme beseitigt; zugleich ist die sphärische Aberration für zwei verschiedene Farben corrigirt, welche bisher die stärkeren Mikroskop-Objekte unkorrigirt liess. Die mit den apochromatischen Objektiven eingeführten Projektionsokulare für mikrophotographische Zwecke sind Linsenkombinationen, welche äusserlich die Form von Okularen haben, um sie durch Einschieben in den Tubus mit dem Objektiv zu verbinden. In Wirklichkeit sind es mit einer Collektivlinse verbundene Objektive, welche nach Art photographischer Objektive sphärisch und chromatisch corrigirt sind. Solche Projektionsokulare sind übrigens auch in Verbindung mit gewöhnlichen Mikroskop-Objektiven mit Vortheil zu verwenden.

Auf das früher bereits erwähnte Verfahren, das durch das Mikroskop erzeugte Bild nochmals eine photographische Linse passiren zu lassen, wodurch gleichfalls die Fokusdifferenz eliminirt wird, gehen wir hier nicht näher ein.

3. Die Praxis der Aufnahme.

Nachdem das aufzunehmende Objekt richtig beleuchtet und scharf eingestellt ist, empfiehlt es sich, die Aufnahme nicht sogleich zu bewerkstelligen, sondern noch einige Zeit zu warten. Das sogenannte „Verziehen“ des Mikroskops, d. h. eine geringe Veränderung der Länge, beobachtet man nämlich fast immer, wenn irgend welche Manipulationen am Apparate vorgenommen sind. Dadurch geht die scharfe Einstellung verloren. Da allein schon die stärkere Erwärmung durch die Lichtquelle die Metall-

theile zum Dehnen bringt, darf eine Aufnahme nicht eher als etwa eine halbe Stunde, nachdem die Lampe ruhig an ihrem Platze gestanden hat, erfolgen. Ist die von der Beleuchtung ausgehende Wärmeentwickelung so beträchtlich, dass das Präparat oder die Linsen darunter leiden können, so ist eine mit Alaunlösung gefüllte Küvette zur Absorption der Wärmestrahlen einzuschalten.

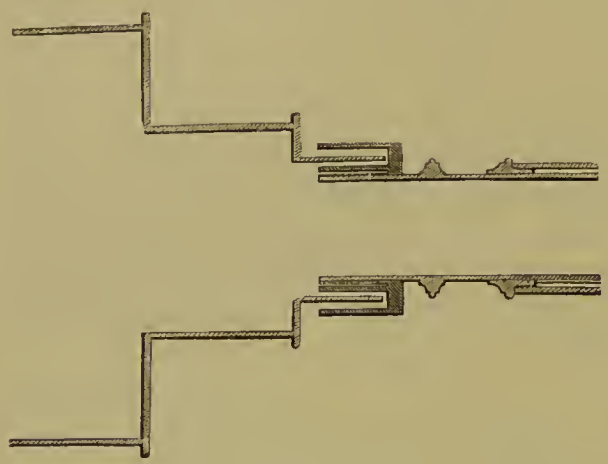

Fig. 58.
Lichtdichte Verbindung zwischen Camera und Mikroskoptubus.

Die Aufstellung von Mikroskop und Camera auf besonderen Tischen ist sehr rathsam.

Sodann erfolgt die Verbindung des Mikroskops mit der Camera, wobei jede Erschütterung des Mikroskops sorgfältigst zu vermeiden ist, durch einen lichtdichten Aermel, am zweckmässigsten jedoch durch die von Zeiss angegebene Vorrichtung (Fig. 58).

Die dem Mikroskop zugewandte Seite der Camera (Stirnseite) trägt einen innen geschwärzten Messingtrichter, an welchem sich die durch Zahntrieb bewegliche Messinghülse vorschiebt. Am oberen Ende des Tubus ist eine doppelte Messingkapsel aufgesteckt, in welche die erste Hülse sich ohne Berührung einschieben und so vollkommener Lichtabschluss herstellen lässt.

Die nächste Aufgabe ist die scharfe Einstellung auf der Visirscheibe. Die gewöhnlichen Mattscheiben reichen für starke Vergrösserungen nicht aus. An ihre Stelle treten Spiegelscheiben, auf deren der Kammer nächstliegenden Seite ein Diamantstrichkreuz eingeritzt ist. Zur besseren Beurtheilung der Schärfe ist die Benutzung einer sogenannten Einstelllupe unerlässlich.

Die gewünschte Vergrösserung (bei Achromaten von Zeiss) ergiebt sich, wenn man den Bildabstand (vom Projektionsokular), in mm ausgedrückt, dividirt durch die Brennweite des Objektivs und die erhaltene Zahl multiplicirt mit der Nummer des angewendeten Projektionsokulars. Eine Vergrösserung von 300 also wird erhalten, wenn ein Bild mit Apochromat 4,0 mm und Projektionsokular 2 in 600 mm Entfernung entworfen wird: $\frac{600}{4,0} \times 2,0 = 300$. Ist also Brennweite von Objektiv und Okular bekannt, so lässt sich durch Aenderung der Länge des Cameraauszugs jede beliebige Vergrösserung erhalten.

Nunmehr beginnt die eigentliche photographische Thätigkeit. Eine in lichtsicherer Kassette befindliche Trockenplatte wird an Stelle der Visirscheibe gebracht und nach Entfernung des Schiebers der Kassette dem Lichte ausgesetzt.

Expositionszeit. Die Länge der Expositionszeit ist von so verschiedenen Faktoren abhängig, dass nur die wesentlichsten hier kurze Erwähnung finden können. Allgemein gilt die Regel, dass, je geringer die Intensität des Lichtes, desto länger die Exposition dauert. Doch ist zu beachten, dass dem Auge hell erscheinende Lichtarten relativ längere Beleuchtungszeit erfordern, wenn sie arm an chemischen, aktinischen Strahlen sind.

Sonnenlicht, ihm zunächst Bogenlicht wirken am stärksten, dann folgen Magnesium-, Kalklicht, Gas, Petroleum. Je enger die gewählte Blende, desto weniger Licht fällt auf das Präparat, desto länger dauert die Aufnahme. Die Einschaltung von Licht absorbirenden Flüssigkeitsschichten (Lichtfiltern) bildet einen weiteren Grund für die Verlängerung der Exposition, ebenso wie die bisweilen ungünstige Art der Färbung der Objekte (braunroth) und deren Dicke. Endlich wächst die Belichtungsdauer, und zwar immer im quadratischen Verhältniss der Länge des Kammerauszugs, so dass, wenn für eine Balglänge von 50 cm die Expositionszeit auf 1 Minute ermittelt ist, sie für 100 cm Auszug bei sonst gleichbleibenden Umständen 4 Minuten beträgt. Die Belichtungszeit ist ferner von der Art der verwendeten Platten abhängig.

Von vornherein lässt sich dieser für das Gelingen guter Aufnahmen wichtigste Umstand nicht rechnerisch feststellen. Es wird in jedem Falle Sache der Uebung und Erfahrung bleiben, wie lange man zu exponiren hat. Stets aber empfiehlt es sich, lieber zu lange zu belichten, als zu kurz. Zu kurz belichtete Platten entbehren der feinen Details in der Zeichnung, die durch keine nachträgliche Behandlung zu gewinnen sind. Dagegen lässt sich eine zu lange exponirte Platte stets durch geeignete Entwickelung eventuell durch spätere Bearbeitung zu einem guten detailreichen Negativ ausarbeiten.

Eine sehr zweckmässige Vorrichtung, um ohne grossen Aufwand von Platten die richtige Expositionszeit festzustellen, ist die von Zeiss angegebene Expositionsskala. Es wird in einer besonders gearbeiteten Kassette nach einander stets nur ein schmaler Streifen der eingelegten Platte verschieden lange belichtet. Nach Entwickelung der Platte sieht man dann, welcher Streifen am besten geglückt ist, und kennt somit die gewünschte Belichtungsdauer.

4. Die Fertigstellung des photographischen Bildes.

Die dem Lichte ausgesetzt gewesene „exponirte“ Platte zeigt noch keine Spur des in ihr enthaltenen Bildes. Dieses ist latent und wird erst durch gewisse Verfahren sichtbar, sodann lichtbeständig gemacht. Es beginnt also nunmehr der Process der „Entwickelung“ oder des „Hervorrufens“ des Bildes, sodann das „Fixiren“. Da bei der ungemein sorgfältigen und gleichmässigen Herstellung der weitaus meisten Plattenfabrikate diese den selbst hergestellten wohl stets erheblich überlegen sind, so ist jedem Mikrophotographen der Bezug der überall erhältlichen Trockenplatten durchaus anzurathen. Diese — ausschliesslich Bromsilbergelatineplatten — unterscheiden sich bei sonst gleich guter Präparation durch ihre Lichtempfindlichkeit, sowie durch die Feinheit ihres Korns. Ist auch eine hohe Empfindlichkeit für unsere Zwecke sehr willkommen, so gaben bisher die lichtempfindlichen Platten leider meist ein gröberes Korn, was der Feinheit und Zartheit des Bildes erheblichen Abbruch thun kann. Die weniger empfindlichen Platten bedürfen längerer Belichtung, sind aber feiner im Korn.

Orthochromatische Platten. Aus schon oben angegebenen Gründen empfiehlt sich ferner die Benutzung „orthochromatischer“ Platten, welche die Farben etwa in dem Helligkeitsverhältniss wiedergeben, wie sie unser Auge wahrnimmt. Erreicht wird die Empfindlichkeit für sonst wirkungslose, also der Platte als Nuancen von Schwarz erscheinende Farben, durch Zusatz bestimmter Farbstoffe, welche durch die gelben, grünen und rothen Strahlen eine chemische Zersetzung erleiden. Eine solche Zersetzung findet aber nur dann statt, wenn die betreffende Platte solche Strahlen absorbirt, und das wird erreicht, wenn man z. B., um gelbempfindliche Platten herzustellen, einen Farbstoff zusetzt, welcher die gelben Strahlen verschluckt, alle anderen durchlässt. Es wird das also Blau sein. Ebenso werden durch Zusatz grüner Farbstoffe die Platten rothempfindlich, durch Zusatz rother die Platten grünempfindlich gemacht. Die orthochromatischen Platten werden entweder in der Schicht selbst, also während der Präparation der Bromsilbergelatine gefärbt, oder man badet die käuflichen gewöhnlichen Trockenplatten in bestimmten Farbstofflösungen und erhält so „Badeplatten“.

Die belichtete Platte muss im Dunkelzimmer entwickelt und fixirt werden; vor Beendigung dieser Manipulation darf kein aktinisches Licht sie treffen. Als Dunkelzimmer genügt jeder Raum, der vor direktem oder zerstreutem Tageslicht mit Sicherheit geschützt werden kann; zu seiner Beleuchtung benutzt man eine mit dunkelrothem Cylinder versehene Lampe, mit kleinem, lichtfangendem Aufsatz oder eine Laterne, die rings von rothen Glasscheiben umkleidet ist. Bei der Entwickelung orthochromatischer Platten geschieht das Entwickeln während der ersten Minuten vollständig im Dunkeln, entwickelt man gewöhnliche Platten, so vermeide man wenigstens Licht direkt darauf fallen zu lassen.

In eine sorgfältig gereinigte Schale kommt die Platte aus der Kassette mit der Schicht nach oben und wird in raschem Schwunge mit dem bereit gestellten Entwickler übergossen.

Die Zahl der Entwickler ist allgemach eine recht grosse geworden. Zu den früher gebräuchlichen Entwicklern, dem Hydrochinon und Pyrogallol, sind in den letzten Jahren noch Eikmogen, Rodinal, Amidol, Metol, Glycin, Diphenal, Ortol u. a. gekommen. Neuhauss, lc. S. 200, empfiehlt besonders das Glycin zum Ausgleich nicht richtiger Belichtungszeiten. Rodinal ist mit 20—30 Theilen Wasser verdünnt am bequemsten zu benutzen. Neuhauss arbeitet seit Jahren ausschliesslich mit Amidol.

Die Beurtheilung, wann eine Platte genügend entwickelt ist, gewinnt man nur durch die Uebung; am vortheilhaftesten ist es, die ersten Versuche unter Leitung eines in der Entwickelung bereits Geübten vorzunehmen.

Fixiren. Nachdem dann die Platte tüchtig abgespült ist, kommt sie in eine Schale mit dem Fixirbade.

Unter den Fixirbädern verdient das saure Fixirsalz den Vorzug, weil es die Platten besser als gewöhnliches Fixirnatron (unterschwefligsaures Natron 1, Wasser 5) klärt. Das Fixirbad ist häufig zu erneuern, da Platten, die in alten Bädern ausfixirt wurden, sich nicht halten. An dem raschen Verderben der Negative tragen viel häufiger alte Fixirbäder als das mangelhafte Auswaschen nach dem Fixiren Schuld. Nach dem Verschwinden des weissen Bromsilbers bleibt die Platte mindestens noch 5 Minuten im Fixirbad.

Nach langem, etwa 2 Stunden währendem Spülen in fliessendem Wasser ist sie von den letzten Spuren des Fixirnatrons befreit und wird jetzt an freier Luft langsam getrocknet.

Das Bild, das in der Durchsicht erscheint, giebt, was in Wirklichkeit hell ist, dunkel wieder und umgekehrt; es heisst daher negativ. Von diesem werden auf lichtempfindlichem Papier Kopien hergestellt, die ein umgekehrtes Negativ, also ein der Wirklichkeit entsprechendes positives Bild ergeben.

Verstärkung und Abschwächung des Negativs. Ist das Negativ schleierfrei, jedoch ohne die nöthige Kraft, so kann man dasselbe verstärken, wie man umgekehrt zu kräftige Negative abschwächen kann. Dies kann beliebig lange nach der Entwickelung geschehen.

Zum Verstärken dienen 2 Lösungen.

Lösung I.		Lösung II.	
Sublimat	4 gr,	Schwefligsaures Natron	20 gr,
Aq. destill.	200 gr.	Aq. destill.	200 gr.

Die zu verstärkende gut ausgewaschene Platte bleibt in Lösung I, bis sie auf der Vorder- und Rückseite vollkommen weiss geworden ist. Nach Abspülen unter der Leitung kommt sie in Lösung II, in der sie

sich wieder schwärzt, und wird dann einige Stunden in mehrmals gewechseltem Wasser ausgewaschen.

Für die Abschwächung wird die Vorrathslösung von 5 gr Kupfervitriol, 15 gr Kochsalz und 50 gr Aq. destill. mit 8—10 Theilen Aq. destill. verdünnt und hiermit die in einer Schale liegende, abzuschwächende Platte übergossen. Legt man nach dem Abspülen unter dem Hahn die Platte in das Fixirbad, so tritt die Wirkung der Abschwächung hervor. Um nicht zu stark abzuschwächen, bleibt die Platte nur kurze Zeit in der Kupfervitriol-Kochsalz-Lösung, wird aber mehrmals in diese zurückgebracht, bis die nöthige Durchsichtigkeit erreicht ist. Nach der Abschwächung ist gründlich zu waschen.

Die Verwendung des mikrophotographischen Apparates zur Projektion von Photogrammen oder mikroskopischen Präparaten ist zum Zweck objektiver Darstellung für ein grösseres Auditorium von Werth, kann aber hier nicht näher besprochen werden.

Für Diejenigen, welche sich mit den einschlägigen Verhältnissen näher vertraut zu machen wünschen, seien als die besten Quellen genannt:

Neuhauss, Lehrbuch der Mikrophotographie. Zweite Auflage. Berlin. 1898.

Jeserich, Die Mikrophotographie. Berlin. 1888.

Pizzighelli, Handbuch der Photographie. Halle. 1892.

Carl Zeiss, Specialkatalog der Apparate für Mikrophotographie. Jena. 1897.

15. Kapitel.

Vervielfältigungsverfahren.

Bei der Ausführung der Originale ist bereits auf die Art ihrer Vervielfältigung Rücksicht zu nehmen. Es ist darum wichtig, die Reproduktionsverfahren zu kennen.

Für den Holzschnitt bestimmte Zeichnungen werden am besten mit Bleistift direkt auf dem Holzblock, der mit einem Ueberzug von Zinkweiss und arabischem Gummi versehen ist, ausgeführt. Das Zeichnen auf Holz bietet keine besonderen Schwierigkeiten, verlangt aber doch eine des Zeichnens kundige Hand; häufigere Korrekturen der Zeichnung, welche dadurch leicht an Klarheit einbüsst, sind zu vermeiden.

Die Zeichnungen für die Zinkhochätzung dürfen nur in schwarzen Linien und Punkten oder schwarzen Flächen bestehen, Farben und Halbtöne sind ausgeschlossen, ebenso Abtönungen durch heller ge-

tönte Linien, da die Platte jede Linie gleichmässig schwarz liefert. Die Linien kommen entweder schwarz oder bleiben ganz aus. Rundungen können nur durch Rundschraffur ähnlich wie beim Holzschnitt wiedergegeben werden.

Einfachere Zeichnungen werden auf glattem, weissem Papier (am besten Bristolpapier) mit der Zeichenfeder und schwarzer Tusche ausgeführt.

Da durch Verkleinerung der Originale für die Zinkographie hübschere Bilder gewonnen werden, fertigt man gleich die Originalzeichnung in grösserem Maassstabe an. Die Verkleinerung kann bis auf $^1/_{10}$ linear und mehr erfolgen. Für gewöhnlich verkleinert man auf ein Dritttheil. Die Entfernung der einzelnen Linien und Punkte der Zeichnung von einander richtet sich nach der Verkleinerung.

Für den Mikroskopiker, welcher oft seine Objekte in bestimmten Vergrösserungen wiedergeben will, hat die Verkleinerung die Unbequemlichkeit, dass das Original um so viel vergrössert gezeichnet werden muss, als die Verkleinerung bei der photographischen Uebertragung beträgt.

Bezeichnungen werden am besten mit Bleistift angegeben, wenn sie nicht gleich auf dem Original in sauberer Schrift (Kursiv- oder Rundschrift, Antiqua) angebracht werden können.

Will man für Zinkographie eine durchgepauste Zeichnung verwenden, so ist diese auf weissem, ungeöltem (nicht gelbem, geöltem) Pauspapier herzustellen.

Da es bei manchen Gegenständen schwer ist, die Abtönungen durch Schraffur mit der Feder zu gewinnen (man denke an grössere Flächen), zerlegt man die Töne in Linien und Punkte durch verschiedene Papiersorten, welche ein eingeprägtes Korn oder eingeprägte Furchen besitzen, so dass beim Zeichnen mit Kreide Körnung oder parallele Linien je nach der Stärke des angewendeten Druckes stärker oder schwächer hervortreten. Dunkle Stellen und Umrisse können noch mit der Zeichenfeder hervorgehoben werden. Dieses Korn- und Linienpapier (gefurchtes oder Schab-Papier) kann auch mit schwarzen Linien und Punkten zwischen den Furchen und vertieften Punkten versehen werden, um so einen Grundton zu erhalten. Da diese Vertiefungen und aufgedruckten Punkte und Linien in einem Kreideüberzug, welcher das Papier bedeckt, angebracht sind, ist es möglich, durch Abschaben der oberen Schichte des Kreidepapiers (Schabpapier) von den schwarzen Punkten und Linien nach Bedarf zu entfernen oder den weissen Grund hervortreten zu lassen. Man erhält so verschiedene Abtönungen (Schabzeichnung).

Die Zeichnung wird entweder durch Umdruck oder auf photographischem Wege auf eine Zinkplatte übertragen, welche dann der Einwirkung einer Säure ausgesetzt wird, wodurch an den von der Zeich-

nung freien Stellen das Metall auf eine gewisse Tiefe entfernt wird (Hochätzung).

Der Vorzug der Hochätzung besteht darin, dass das ursprüngliche Original, weil seine Uebertragung rein mechanisch erfolgt, auch getreu wiedergegeben wird. Doch werden feinere Details häufig durch das Korn des Papiers beeinträchtigt, weshalb in solchen Fällen andere Verfahren den Vorzug verdienen.

Von der Zinkhochätzung sind noch folgende Modifikationen zu erwähnen: a) Uebertragung des Originals mittelst Chromgelatinepapier (Uebertragung des Negativ auf photolithographisches Papier und Ueberdruck des so gewonnenen Bildes auf Zinkplatte), b) das Asphaltverfahren und c) das Eiweissverfahren.

Die Autotypie (Meisenbach's Verfahren) ermöglicht im Gegensatz zu den übrigen Verfahren, welche nur schwarze Linien und Punkte, aber keine Halbtöne wiedergeben, auch Wiedergabe dieser, wie sie photographische Negative von unmittelbaren Naturaufnahmen, Tusch- und Bleistiftzeichnungen enthalten.

Die verschiedenen Töne des wiederzugebenden Gegenstandes oder der Zeichnung werden in Netze von Linien oder Punkte zerlegt, welche je nach ihrer Breite oder ihrer weiteren oder dichteren Lagerung im Druck heller oder dunkler, den Tönen der Zeichnung oder des Gegenstandes entsprechend wirken. Derartige Druckplatten geben demnach die Gegenstände mehr in ihrer allgemeinen malerischen Wirkung als in Einzelheiten. Scharfe Linien kommen dabei nicht zum Ausdruck und zarte Töne gehen verloren. Die Autotypie findet deshalb mehr Verwendung für die Darstellung von perspektivischen Bildern, gleichmässig oder verschieden getönten Flächen.

Das Verfahren besteht in Folgendem: Ein auf eine Glasplatte photographirtes Liniennetz wird zwischen Urbild und empfindliche Platte gelegt und durch die Netzplatte eine vergrösserte Aufnahme des Bildes hergestellt. Von diesem vergrösserten Negativ, dessen Halbtöne durch die Netzplatte in Linien und Punkte zerlegt sind, wird eine gute hochglänzende Papierkopie auf photographischem Wege und von dieser durch eine neue Aufnahme das gewünschte Negativ in beliebiger Verkleinerung hergestellt.

Das Verfahren eignet sich auch für den Farbendruck.

Halbton-Heliotypie in natürlichem Korn ist ein von Riffarth in Berlin eingeführtes Verfahren, bei welchem einfacher als bei der Autotypie das Bild von photographischem Negativ auf die Metallplatte übertragen wird.

Der Lichtdruck (Albertotypie). Belichtung der mit Chromgelatine überzogenen empfindlichen Glasplatte unter dem photographischen Negativ. Die Gelatinechromatschicht besitzt die Eigenschaft, an den belichteten Stellen fette Farbe anzunehmen. Das Verfahren giebt zwar nicht alle Details wieder, ist aber einfach und verhältnissmässig noch billig. Eignet sich nicht für Textillustrationen.

Lichtkupferstich, Heliographie, Heliogravure, Photogravure sind gleichbedeutende Bezeichnungen für dasselbe Verfahren, d. h. für Herstellung von vertieften Druckplatten auf photomechanischem Wege (Chromgelatinebild). Sie ist das vollkommenste, aber auch das theuerste photomechanische Verfahren.

Zur weiteren Orientirung über die verschiedenen Vervielfältigungsverfahren sind zu empfehlen:

Neuhauss, Lehrbuch der Mikrophotographie. II. umgearbeitete Auflage. Braunschweig. Harald Bruhn 1898.

H. Paul & J. Lehmann, Hülfsbuch bei Herstellung und Preisberechnung von Druckarbeiten. Breslau. Verlag von Freund. 1890.

Maihak, Die Vervielfältigung von Zeichnungen. Berlin. Verlag von J. Springer. 1887.

Carl Kampmann, Fachlehrer an der k. k. Lehr- und Versuchsstation für Photographie und Reproduktionsverfahren in Wien, Titel und Namen der verschiedenen Reproduktionstechniken. Wien 1891. Im Selbstverlag des Verfassers.

Dritter Abschnitt.

Specieller Theil.

Zelle und Kern.

Bei Untersuchung frischer Gewebe ist zu beachten, dass das Kernchromatin (Nuclein) in schwachen Säuren sich nicht löst, sondern gefällt wird, dass starke Säuren dasselbe lösen und chromsaure Salze bei längerer Einwirkung dasselbe verändern.

Für Darstellung der Mitosen müssen die Theile ganz frisch in die Fixirungsflüssigkeit (Sublimat, Pikrinsäure, Salpetersäure, Alkohol, Flemming's Lösung etc.) gebracht werden.

Man findet zwar bei Theilen, die längere Zeit p. mortem. fixirt wurden, noch Kerntheilungsfiguren, aber weniger zahlreich wie bei frischen Theilen, weil eben ein Theil der Karyokinesen nach dem Tode abgelaufen ist.

Für eine vollständige Fixation müssen die Stücke klein sein (grösster Durchmesser 3—4 mm), damit die Fixationsflüssigkeit sie vollkommen durchdringen kann, und diese muss reichlich sein, etwa das fünfzig- bis hundertfache Volumen des zu fixirenden Stückes betragen. Näheres siehe Fixiren und Nachbehandlung.

Darstellung von Mitosen.

Geeignete Fundorte für Mitosen sind embryonale Gewebe, junge Frosch- und Salamanderlarven, in Regeneration begriffenes Epithel und Descemet'sches Endothel der Hornhaut, regenerirendes Bindegewebe. Granulationsgewebe, Neubildungen.

Rabl's und Hermann's Fixirung (siehe Fixirung) lassen Protoplasmastrukturen und letztere auch das Centrosom hervortreten.

Centrosom, Spindelfäden, Lininfäden und Polstrahlung werden durch Flemming's Chromosmiumessigsäuregemisch gut conservirt.

Zur Färbung des Chromatins, die an Stücken[1]) oder Schnitten vorgenommen werden kann, dient Hämatoxylin, Brasilin[2]), Karmin, Fuchsin,

[1]) Für Stückfärbung Heidenhain's und Friedländer's Hämatoxylinfärbung.

[2]) Aus dem Brasilinholz, wird wie Böhmer's Hämatoxylin mit Alaun hergestellt und eben so gebraucht. Es färbt leuchtend roth.

Safranin, Gentiana und andere Anilinfarben (Gram'sches Verfahren, siehe Bakterienfärbung).

Eine sehr intensive Färbung besonders auch der Polkörper und Attractionssphäre liefern Präparate, die nach Benda's neuer Eisenhämatoxylin- und Kupferhämatoxylinmethode, nach Flemming's Orangeverfahren gefärbt wurden.

Zum Einschliessen dient ein nicht zu stark brechendes Medium.

Baumgarten's Verfahren zur Darstellung der Mitosen neben Bakterienfärbung.

1. Mehrwöchentliche Härtung in dünnen Lösungen von Chromsäure (0,2 %);
2. Färben 5—10 Minuten in alkoholischer Fuchsinlösung;[1])
3. Rasches Abspülen in Alkohol absol.;
4. Nachfärben 5—10 Minuten in concentrirter wässriger Methylenblaulösung.

Entwässern 5—10 Minuten in Alkohol absol.

Nelkenöl.

Durch das Methylenblau wird das Fuchsin aus der Zwischensubstanz verdrängt, wodurch ein schärferes Hervortreten der Kerne erzielt wird.

Für die Bacillenfärbung (Tuberkelbacillen) wird erst 24 Stunden in Anilinwassermethylviolett gefärbt, mit verdünnter Säure entfärbt, resp. für andere Bakterien mit Wegfall der Säure die Fuchsin-Methylenblaumethode gebraucht. Die Bacillen erscheinen blau, die Zellkerne roth.

Das Gram'sche Verfahren (siehe Bakterienfärbung) eignet sich ebenfalls für Darstellung der Mitosen. Während die ruhenden Kerne, wenigstens theilweise, durch diese Methode entfärbt werden, behalten die in Mitose begriffenen Kerne die blaue Farbe.

Darstellung der Zell-Granulationen nach Altmann.[2])

1. Conservirung der dem eben getödteten Thiere entnommenen sehr kleinen Stückchen 24 Stunden in einer Mischung

   Kalibichromic.-Lösung . . . 5 %
   Ueberosmiumsäure . . . . 2 %

   zu gleichen Theilen;
2. Auswaschen in fliessendem Wasser mehrere Stunden;
3. Härtung in 75procentigem, dann 90procentigem, dann absolutem Alkohol;
4. Durchtränkung mit Xylol und Einbettung in Paraffin;
5. Schneiden;

[1]) 8—10 Tropfen der concentrirten alkoholischen Lösung auf ein kleines Uhrschälchen mit Wasser.

[2]) Die Elementarorganismen. Leipzig 1890.

6. Xylolbehandlung der auf dem Objektträger aufgeklebten Schnitte zur Entfernung des Paraffins, darauf Abspülung in Alkohol:
7. Färben durch Auftropfen einer 20procentigen Lösung von Säurefuchsin in kaltgesättigtem Anilinwasser auf den Objektträger, Erwärmen über der Flamme, bis die Lösung dampft;
8. Nach dem Erkalten Abspülung des Farbstoffes mit einer Mischung aus alkoholischer concentrirter Pikrinsäurelösung (1 Theil mit 2 Theilen Wasser);
9. Aufgiessen einer zweiten Portion von Pikrinsäurelösung und vorsichtiges Erwärmen 30—60 Sekunden auf dem Paraffinofen;
10. Abspülen in Alkohol, dann Xylol;
11. Xylol-Damar.

Zum Aufkleben der Schnitte auf den Objektträger benutzt Altmann Kautschuk in Chloroform, das käufliche Traumaticin, welches mit dem 25fachen Volum Chloroform verdünnt wird. Die verdünnte Lösung wird über den Objektträger gegossen, abgetropft und nach dem Verdunsten der Objektträger erhitzt. Die Schnitte werden aufgelegt und mit Schiessbaumwolle in Aceton und Akohol (2 gr Schiessbaumwolle in 50 ccm Aceton gelöst und davon 5 ccm mit Alkohol verdünnt) angepinselt, dann mit Fliesspapier an den Objektträger angedrückt, nach dem Trocknen angeschmolzen und mit den Farblösungen behandelt.

Darstellung von Zelleinschlüssen in Geschwülsten (Russell).

1. Härtung in Alkohol oder Müller'scher Flüssigkeit;
2. Färbung 10 Minuten und darüber in einer gesättigten Lösung von Fuchsin in 2procentigem Carbolwasser;
3. Auswaschen in Wasser, einige Minuten;
4. Auswaschen in Alkohol absol. $^1/_2$ Minute;
5. Färben in 1procentiger Lösung von Jodgrün in 2procentigem Carbolwasser 5 Minuten.
6. Schnelles Entwässern in absol. Alkohol, Nelkenöl Canada.

Färbung der Kerngranula (Altmann[1]).

Nach Altmann werden die zwischen den Balken des Kerngerüstes vorhandenen Räume, welche den Kernsaft enthalten sollen, auch von Granulis und dem feinen intergranulären Netz des Kerns eingenommen. Die Fixirung des ruhenden Kerns behufs Darstellung der Kerngranulationen wird erreicht durch Einlegen der frischen Organe in eine Lösung von molybdänsaurem Ammoniak

	von $2^1/_2$ %
Freie Chromsäure	$^1/_4$ %

[1]) Verhandlungen der anatomischen Gesellschaft. 1892.

Nach 24 Stunden werden die Organe direkt in Alkohol übertragen und nach einigen Tagen oder Wochen in reines Paraffin eingebettet. Färbung mit Hämatoxylin und Gentiana.

1. Kapitel.

Untersuchung entzündeter und wuchernder Gewebe.

Die Versuche zur Beobachtung des Entzündungsprocesses am lebenden Thiere, besonders an gefässreichen Membranen, wie dem Mesenterium des Frosches und der Säugethiere, haben schon früher (siehe Kapitel Untersuchung des lebenden Objekts, S. 31 u. f.) eine kurze Darstellung gefunden, auf welche hiermit verwiesen wird. Sie gestatten jedoch nur die Anfangsstadien der Entzündung, die Circulationsstörung, Emigration, Thrombose etc. zu verfolgen. Für die späteren Stadien, insbesondere für die an den Gewebselementen des Entzündungsherdes ablaufenden Vorgänge, Nekrose, Degeneration und die sich anschliessenden regenerativen Processe wählen wir am besten die Hornhaut (Frosch, Säuger, Taube) nach Aetzung mit Chlorzink, Nelkenöl, Lapis, Verbrennung mit Ferrum candens, Inoculation von Bakterien. Wir lassen am besten die Schädlichkeit von einer circumscripten Stelle aus wirken, um eine zu stürmische Entzündung zu vermeiden.

Die einfachere Struktur der Hornhaut, die Möglichkeit, sie in dünne Lamellen zu zerlegen, erleichtert ganz wesentlich die Untersuchung.

Die Ausbeute, welche die Untersuchung des frischen Objektes liefert, ist keine sehr grosse. Viel dankbarer ist das fixirte Objekt (Fixirung in Goldchlorid, Hermann's und Flemming's Gemisch). In ersterem Fall Färbung in Hämatoxylin, in den beiden letzteren Färbung mit Safranin.

Für andere entzündete Organe ist neben der Fixirung in Hermann's oder Flemming's Mischung Conservirung in Zenker's oder Müller's Flüssigkeit und nachträgliche Alkoholhärtung oder Conservirung in Alkohol (bei Bakterienpräparaten), Färbung in Hämatoxylin und Safranin oder Doppelfärbung in Hämatoxylin und Eosin zu empfehlen.

Für die verschiedenen Neubildungen reicht die Untersuchung des frischen Objekts in physiologischer Kochsalzlösung an Zupfpräparaten oder Schnitten in vielen Fällen schon aus. Für schnelle Härtung, wenn es darauf ankommt, Uebersichtsbilder zu erhalten, lässt man die frischen oder wenige Stunden in Formol gehärteten Präparate gefrieren und färbt dann.

Alkohol- oder Sublimathärtung, für Schnellhärtung auch heisser Alkohol absol. oder Kochen kleiner Stücke in Alkohol unter wiederholter Erneuerung des Alkohols. Schneiden in Klemmleber. Von kleinen Objekten lassen sich schon in wenig Stunden Schnitte anfertigen. Etwas mehr Zeit beansprucht die Paraffinisirung, 12 Stunden. — Härtung bis

1 Stunde von $^1/_2$ cm grossen Stücken in wechselndem Alkohol, — 1 Stunde in Anilinöl bis 50°, ebenso lang in wechselndem Xylol, so lange keine Gelbfärbung eintritt. Uebertragen für 2 Stunden in Paraffin, das einmal erneuert wird (Lubarsch). Die Schnitte schrumpfen bei diesem Verfahren mehr als bei Behandlung 1 mm dicker Scheiben in Formol und Schneiden auf dem Gefriermikrotom. Conservirung in Zenker's oder Müller's Flüssigkeit und nachherige Alkoholhärtung liefert meist bessere Bilder als die einfache Alkoholhärtung. Nur muss man in diesem Fall auf eine scharfe Färbung der karyokinetischen Figuren verzichten.

Färbung der Mastzellen.

Diese Zellen finden sich im Bindegewebe, besonders bei chronisch entzündlichen Prozessen (in Schleimhäuten, in der Submucosa, im intermuskulären Bindegewebe, serösen Häuten, im Bindegewebe der Drüsen, meist in der Nähe der Gefässe, im leukämischen Blut) als kuglige, zuweilen auch platte und unregelmässige Gebilde von der doppelten bis dreifachen Grösse der Leukocyten. Sie bestehen aus grobkörnigem Protoplasma, dessen Körner mit basischen Anilinfarben sich intensiv färben; bei Anwendung der violetten Farbstoffe nehmen die Körner eine röthliche Färbung an, während der Kern meist ungefärbt bleibt. Ihre physiologische und pathologische Bedeutung ist noch sehr wenig bekannt, mit der Mästung stehen sie in keiner nachweisbaren Beziehung.

Färbung der Mastzellen nach Ehrlich.

1. Alkoholhärtung.
2. Färben 12—24 Stunden in gesättigter Lösung von Dahlia in:

Alkohol absol.	50 ccm,
Aq. destill.	100 ccm,
Eisessig	12,5 ccm.

Auswaschen in Wasser.

Gleichzeitige Färbung der Kerne wird durch das Ehrlich-Westphal'sche Verfahren erreicht.

1. Mehrtägige Conservirung in Alkohol (mindestens eine Woche).
2. Lösung von:

Alaunkarmin	100 ccm,[1])
Gesättigte Dahlialösung in absolutem Alkohol	100 ccm,
Glycerin	50-100 ccm,
Eisessig	10 ccm.

[1]) Karmin . . . . . 1 gr.
Destill. Wasser . . . 100 ccm,
Alaun . . . . . 1 gr,
werden $^1/_4$ Stunde gekocht, filtrirt und 1 ccm Karbolsäure zugesetzt.

Nach wiederholtem Umrühren lässt man die Mischung einige Zeit stehen. Färben 24 Stunden lang, Entfärben 24 Stunden in Alkohol absol.

In den entfärbten Schnitten erscheinen die Kerne roth, die Granulationen der Mastzellen blau.

Färbung der Plasmazellen, insbesondere bei Lupus nach Unna.[1])

1. Färbung der mit Löschpapier gut abgetrockneten Schnitte entweder rasch mit starken Lösungen von altem (alkalischem) Methylenblau in der Wärme mit Zuhilfenahme von Beizen oder langsam mit schwachen Lösungen in der Kälte.

2. Uebertragen der stark gefärbten Schnitte in Alkohol absol.

3. Uebertragen der Schnitte, sobald die Oberhaut als dunkles Band von der Cutis sich abhebt, in Kreosol[2]) einige Minuten bis mehrere Stunden.

4. Abspülen mit Xylol, Einschliessen.

Die protoplasmatischen Theile erscheinen gut differenzirt und die Mastzellen kirschroth.

Färbung der basophilen und acidophilen Zellen im Bindegewebe nach Bergonzini.[3])

Die Waldeyer'schen Plasmazellen und die Ehrlich'schen Mastzellen sind je nach den Thieren und bei demselben Thiere je nach ihrer Beschaffenheit bald basophil, bald acidophil. Zu ihrer Darstellung verwendet Bergonzini darum ein Gemisch aus sauren und basischen Farbstoffen.

basisches Methylgrün,
schwach saures Fuchsin nach Weigert,
stärker saures Goldorange nach Griesbach, } 0,2 gr.

Man löst von jeder Farbe 0,2 gr. in 100 ccm Aq. destill. und mischt einen Theil der rothen Lösung mit je 2 Theilen grüner und gelber, worauf man durch Baumwolle filtrirt. Die Mischung färbt das fibrilläre Bindegewebe und die elastischen Fasern rosen- oder purpurroth, die rothen Blutkörperchen orangeroth, die weissen granulirten Blutkörperchen rothbraun. die glatten und quergestreiften Muskelfasern, sowie die Nervenfasern dunkelgelb. alle Kerne grün, Knorpel und entkalkten Knochen blau.

[1]) Unna, P. H., Ueber Plasmazellen, insbesondere beim Lupus. — Monatsschrift für prakt. Dermatologie. Bd. XII, 1891, p. 296—317. — Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. IX. 1. 93. 1892.

[2]) Statt des Alkohols kann auch durch kurze Behandlung mit Anilinöl entwässert werden.

[3]) Bergonzini, Ueber das Vorkommen von granulirten basophilen und acidophilen Zellen im Bindegewebe und über die Art, sie sichtbar zu machen. Anat. Anzeiger VI, 1891. No. 20, 21, p. 595—600.

Die basophilen Zellen zeigen grüne Körnchen (Bindegewebe der weissen Mäuse), die schwächer acidophilen Zellen zeigen lebhaft rothe Körnchen und grünen Kern (Mesenterium des erwachsenen Frosches), die stärker acidophilen Zellen zeigen neben grünem Kern orangerothe oder mehr bräunliche Körnchen.

---

2. Kapitel.

Nekrose. — Atrophie. — Degeneration.

a) Nekrose.

Obgleich nekrotische Herde sich sowohl an Zupf- wie Schnittpräparaten frisch in Kochsalzlösung untersuchen lassen, geben doch nur gefärbte Schnitte eine klare Vorstellung von den feineren Veränderungen und den im Umkreis der Nekrosen sich abspielenden reaktiven Vorgängen. Mit Rücksicht auf das histologische Detail (Untergang des Kerns, Karyolyse, Kern- und Zellvermehrung) ist, (bei Versuchsthieren Nekrose nach Aetzung, Unterbindung, durch Parasiten) eine gute Fixirung nöthig. Alkohol absol. empfiehlt sich mehr wie die Chromosmiumgemische etc., bei Gegenwart von Mikroorganismen.

Kommt es darauf an, die Ausdehnung fettiger Degeneration festzustellen, ist die Härtung in chromsauren Salzen, Schneiden mit dem Gefriermikrotom (ohne vorherige Alkoholhärtung, Osmiumbehandlung) nöthig. Ueberhaupt empfiehlt sich, die Präparate zum Theil in Alkohol, zum Theil in einer anderen Flüssigkeit in Zenker's und Müller's Gemischen zu härten.

Celloidin- und Paraffineinbettung (stark nekrotisirte Herde fallen bei Paraffineinbettung leicht aus). Doppelfärbung mit Hämatoxylin oder Eosin. Karminfärbung. Die nekrotischen Stellen fallen sofort auf, da sie in Folge des Kern- und Zellenschwundes sich nicht mehr mit Kernfarben tingiren.

Die stark (mit Hämatoxylin oder Safranin) sich färbenden Körner in nekrotischen Herden sind Produkte der Kernchromatolyse. Karmin und Eosin färben die Nekrosen diffus. Mit Weigert's Fibrinfärbung ist für gewöhnlich kein Fibrin in den nekrotischen Stellen nachzuweisen.

b) Atrophie.

Untersuchung der frischen Objekte an Zupfpräparaten ist nie zu unterlassen. Nerven und Muskeln, die sich unter Umständen schwieriger isoliren lassen, werden mit Macerationsflüssigkeiten (siehe diese) behandelt oder nach Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit, Fixirung in Osmiumsäure, zerzupft.

Für Schnittpräparate ist Härtung in Müller's, bei ganz frischen Objekten in Flemming's oder Hermann's Fixirflüssigkeit, in Sublimat,

Celloidineinbettung. Färbung in Hämatoxylin, Safranin, Hämatoxylin und Eosin zu empfehlen.

Für den Nachweis der Verfettung dienen frische, in Müller'scher oder in osmiumhaltiger Fixirflüssigkeit conservirte Präparate.

Bei Pigmentatrophie ist ein rother Kernfarbstoff (Carmin, Lithionkarmin) dem Hämatoxylin, welches das Pigment verdeckt, vorzuziehen.

c) Trübe Schwellung

wird an Material, das durch Abstreifen der frischen Schnittfläche mit dem Skalpell gewonnen wurde, untersucht. Die feinen Körnchen, welche die Zellen trüben, schwinden bei Zusatz von Essigsäure, sind also kein Fett.

d) Die fettige Entartung.

Untersuchung an frischen Zupf- oder Schnittpräparaten. Zusatz von Essigsäure lässt die Fettkörnchen deutlicher hervortreten, ebenso Behandlung mit Kali oder Natronlauge oder mit Osmiumsäure frisch oder nach Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit — die Fettkörnchen werden durch Osmiumsäure geschwärzt. In Aether oder Chloroform werden sie gelöst [1]) nach vorausgegangener Entwässerung durch Alkohol.

Alkoholhärtung ist wegen allmählicher Lösung des Fettes nur neben Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit, Osmiumsäure oder Osmiumgemischen zulässig. Besonders die letzteren oder Müller's Flüssigkeit mit $^1/_4$ Volumen 1procentiger Osmiumsäure (Marchi's Methode) sind sehr geeignet für den Nachweis des Fettes, ebenso Flemming's Gemisch. Nach zwei Wochen Schneiden mit dem Gefriermikrotom, Auswaschen, Einlegen in Glycerin.

Formolpräparate können noch mit Flemming's Lösung oder Osmiumsäure zum Nachweis des Fettes behandelt werden.

Vor dem Einlegen der Präparate in Alkohol ist die Osmiumsäure sorgfältig durch Auswaschen in Wasser zu entfernen, da sonst später in den Alkoholpräparaten eine Abscheidung der überschüssigen Osmiumsäure und reducirender Substanzen in Gestalt feiner Partikelchen erfolgt.

Da Osmiumsäure die Kernfärbung erschwert (am besten reussirt noch Safranin), ist für diesen Zweck Alkoholhärtung nicht zu umgehen.

Das osmirte Fett ist nicht löslich in Alkohol, Chloroform und Nelkenöl wird aber in Terpentinöl, Xylol, Creosot, Toluol. Aether gelöst. Die Präparate können deshalb nach sorgfältigem Auswaschen zur besseren Härtung in Alkohol nachgehärtet werden. Zum Einschluss ist in der Wärme verflüssigter Canadabalsam geeigneter als Xylolbalsam. (Siehe Entfettung S. 21.)

[1]) 1. Entwässern in Alkohol absol.;
2. Aether oder Chloroform zur Extraktion des Fettes·
3. Verdrängung von Aether und Chloroform durch Alkohol;
4. Untersuchung in Wasser oder Kochsalz.

e) Schleimige Entartung.

Mucinhaltige Gewebe werden am besten frisch untersucht, Alkohol wie Essigsäure fällen das Mucin, dagegen erhalten sich die schleimhaltigen Gewebe in Müller'scher Flüssigkeit.

Für Härtung eignen sich sowohl Alkohol, wie Müller'sche Flüssigkeit, Formol oder Sublimat. Hoyer empfiehlt Sublimat von 5 % bei zwei- bis achtstündiger Einwirkung, dann Härtung in 80procentigem Alkohol. Auswaschen in Alkohol, Xylol, Paraffineinbettung. Auch Celloidinpräparate sind zur Färbung geeignet.

Frisch ist Mucin nicht oder schwer färbbar, erst durch Fällung wird es tingibel.

Zum Färben eignet sich Hämatoxylinalaun und die basischen[1]) Anilinfarben, unter diesen besonders das wässrige Methylenblau, Phenylbraun, Thionin und Toluidinblau.

Thionin gesättigte wässerige Lösung 2 Tropfen.
Aq. destill. . . . . 5 ccm.

Dauer der Färbung 5—15 Minuten.

Kerne, Protoplasma und Gewebe erscheinen hellblau, der schleimige Inhalt der Becherzellen rothviolett.[2])

Meyer empfiehlt für Nachweis des Schleims Färben 10 Minuten in Hämateïn 0,2 gr, verrieben mit einigen Tropfen Glycerin und Chloraluminium 0,1 gr, Glycerin 40,0, Wasser 60,0. Auswaschen.

f. Colloidentartung.

Härtung in Alkohol, Formalin oder Müller'scher Flüssigkeit, Färbung in Hämatoxylin und Eosin.

Mit Säurefuchsin und Pikrinsäure (van Gieson, siehe Hyalin) färbt sich echtes Colloid mit der orangerothen Mischfarbe. Dahin gehören Schilddrüssencolloid, manche colloiden Nierencylinder, das Eierstockscolloid.

Die koncentrischen Thymuskörper werden mehr orangeroth, die wachsartig entarteten Muskeln rothgelb, während die normalen gelb werden.

Zur Unterscheidung von Hyalin ist die Färbung jedoch nicht ausreichend, denn Colloid färbt sich mitunter ebenso roth wie Hyalin.

g. Hyaline Entartung.

Die glasige Beschaffenheit tritt schon an frischen Präparaten hervor. Färbung mit Hämatoxylin oder mit Hämatoxylin und Eosin giebt gute Bilder, da sie das Hyalin nicht oder wenig färben.

---

[1]) Das salz- und salpetersaure Rosanilin, das gewöhnliche Fuchsin, das neutrale Fuchsin von Unna, das Magentaroth, das echte Magdala, das Jodgrün. Methylgrün, Methylviolett, Gentianaviolett, Jodviolett, Krystallviolett, Viktoriablau.

[2]) Hoyer, Archiv für mikroskopische Anatomie. 36. Bd. 1890.

Das echte Hyalin färbt sich nach Ernst[1]) mit van Gieson's[2]) Gemisch (Säurefuchsin und Pikrinsäure) purpurroth, das Protoplasma gelb, die Kerne bei Hämatoxylinfärbung blau. Dahin gehören das Hyalin des interfollikulären Schilddrüsengewebes, die hyalinen Reste der Theca folliculi des Ovariums, hyaline Glomeruli der Nieren, das Hyalin plexiformer Geschwülste.

1. Härtung in Alkohol. Färben 3—5 Minuten in einem Gemisch aus einigen Tropfen einer gesättigten wässerigen Lösung des Grübler'schen Säurefuchsins und einer gesättigten wässerigen Pikrinsäurelösung. Die Mischung soll dunkelgranatroth sein;
2. rasches Auswaschen in Wasser;
3. Entwässerung in Alkohol;
4. Origanumöl, Canadabalsam.

Bei Doppelfärbung wird zuerst in Delafield's Hämatoxylin gefärbt, dann ausgewaschen und hierauf nach van Gieson gefärbt.

Die Präparate dürfen bei der Färbung nach van Gieson nicht in Müller'scher Flüssigkeit gelegen haben.

h. Amyloidentartung.

Bei einigermaassen vorgeschrittener Amyloidentartung sind die betreffenden Organe schon frisch leicht zu schneiden. Für Härtung: Alkohol, Formol oder Müller'sche Flüssigkeit. Das Amyloid zeigt einige sehr charakteristische Reactionen.

a) Jodreaction.

Jod färbt die amyloide Substanz braunroth, das übrige Gewebe hellgelb; man benutzt am besten eine ganz schwache Lösung (Lugol'sche Lösung 1 Jod, Jodkali 2, Wasser 100, verdünnt, so dass sie eine cognacbraune Farbe hat). Nach 3 Minuten Färbung Auswaschen in Wasser. Durch Glycerin, das man zu 25 % der Jodlösung auch zufügen kann, wird die Reaktion schöner und reiner.

Die Jodfärbung ist nicht sehr haltbar. Am besten hält sie sich bei dem von Langhans angegebenen Verfahren zur Conservirung der Glycogenfärbung. Siehe Seite 181.

Galeotti's[3]) Verfahren beruht auf der Eigenschaft des Chlors, in den Jodüren an Stelle des Jods zu treten und dieses in Freiheit zu setzen.

1. In Alkohol gehärtete und in Celloidin eingebettete Präparate werden in Wasser ausgewaschen und in 5procentige Jodkaliumlösung $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde gebracht;

[1]) Virchow's Archiv. Bd. 130. 1893.
[2]) van Gieson, The New York medical Journal. 1889.
[3]) Centralblatt für Pathologie V. Bd. 1894. No. 7.

2. kurzes Auswaschen in Aq. destill.;
3. Uebertragen in Chlorwasser mit der Hälfte Wasser verdünnt, Auswaschen in vielem Wasser;
4. Einschluss in Glycerin;
   Hauptvortheil, dass auch kleine Amyloidtheile sehr deutlich werden.

b) Jodschwefelsäurereaction.

In vielen Fällen verändert sich die Farbe der mit Jod behandelten Schnitte amyloider Organe bei Zusatz von Schwefelsäure. Sie wird entweder gesättigt oder geht in eine violette, blaue oder grüne Farbe über. Solche Nuancen treten manchmal schon bei einfacher Jodbehandlung auf. Man legt die mit Jod nicht zu stark, nur hellgelb, gefärbten Schnitte in ein Schälchen mit 1procentiger Schwefelsäure. Die Reaction tritt entweder sofort oder nach einigen Minuten ein.

Die Jod-Schwefelsäurereaction kann sehr verschieden sein; so werden z. B. die Arterien und Vasa afferentia der Niere dunkelroth, die Glomerulusschlingen dagegen tiefblau. Dieses frappante Farbenbild kommt, wie es scheint, nicht sehr häufig zur Beobachtung; dagegen findet man oft z. B. an amyloiden Arterien grösstentheils rothe Färbung und nur einige eingesprengte Partien blau gefärbt. Möglicherweise hängen diese Färbungsdifferenzen mit Alterszuständen des Amyloid zusammen, indem die jüngeren Stellen mit Jod und Schwefelsäure roth, die älteren blau gefärbt werden; so wurden an der Milz mehrmals die Arterien und Capillaren der stark vergrösserten Follikel blau, während die Gefässe der weniger stark — also präsumtiv jünger — erkrankten Pulpa roth gefärbt wurden. Anderweitige Differenzen dieser beiden, verschiedenen Arten des Amyloid sind bisher nicht zu eruiren; sowohl ohne Färbung als bei der Tinction mit Anilinfarben findet man nur eine gleichmässige Beschaffenheit, wo die Behandlung mit Jod-Schwefelsäure die Farbendifferenz zu Tage treten lässt.

Die Reaction mit Jod ist für die mikroskopische Diagnostik des Amyloids nicht zu entbehren; die homogene, glänzende Beschaffenheit theilt das Amyloid mit anderen, colloiden und hyalinen Substanzen, welche letztere mit Jod nur schwach gelb gefärbt werden. Die Rothfärbung bei Behandlung mit violetten Anilinfarbstoffen ist, wie es scheint, nicht immer charakteristisch; z. B. gelingt es häufig, die Harncylinder mit Anilinviolett roth zu färben, während sie mit Jod nur gelb (resp. braun bei sehr starker Einwirkung) gefärbt werden. Es ist daraus zu folgern, dass auch die mit Anilin roth gefärbten Cylinder nicht aus eigentlich amyloider Substanz bestehen, sondern vielleicht eine Vorstufe des Amyloids darstellen.

Die chemische Natur der Amyloidsubstanz ist vielfach studirt; man weiss, dass sie eine stickstoffreiche, den Eiweisskörpern nahestehende Substanz ist. Dagegen ist die Ursache der Jod- und Jodschwefelsäurereaction, von welcher das Amyloid den Namen erhalten hat, noch völlig unbekannt; wir wissen nichts über

die rothe Jodverbindung und über den blauen Körper, in den die letztere durch Schwefelsäure übergeführt wird.

Auch das Cholestearin wird in dünner Jodlösung ziemlich dunkel gefärbt; lässt man unter dem Deckglase einen Tropfen starke Schwefelsäure zutreten, so erhält man an den Ecken der Tafeln ebenfalls eine schöne blaue Färbung.

Das Vorkommen des Hyalins neben dem Amyloid lässt auf verwandtschaftliche Beziehungen beider Körper schliessen.

Aehnliche Reactionen wie das Amyloid in den Geweben, geben:

1. Die Corpora amyloidea in der Prostata, Lunge, und dem Centralnervensystem. Sie werden durch dünne Jodlösung braun, das übrige Gewebe gelb.
2. Die Stärkekörner, welche durch sehr verdünnte Lugol'sche Lösung blau werden.
3. Die Cellulose, welche in einfacher Jodlösung gelb wird. Spült man in Wasser ab und lässt vom Rande des Deckgläschens reine Schwefelsäure zufliessen, so wird die Cellulose, wo sie mit der Schwefelsäure in Berührung gekommen ist, blau.

Amylumkörner kommen in der Mundhöhle, im Magen und Darminhalt vor und werden an der Jod-Reaction sicher erkannt; ausserdem findet man sie nicht selten als zufällige Verunreinigungen. Eine gewisse, indessen rein äusserliche Aehnlichkeit mit Amylumkörnern haben die sogenannten Corpora amyloidea, die im Nervensystem bei degenerativen Processen und bei älteren Individuen in der weissen Substanz des Gehirns und Rückenmarks fast regelmässig gefunden werden; sie finden sich da, wo die Nervensubstanz langsam zu Grunde geht und sind wohl als Endproducte degenerativer Processe der Nervenfasern anzusehen. Mit Jod nehmen sie meist schon eine rosa bis weinrothe Färbung an. Weiterhin bezeichnet man auch als Corpora amyloidea gewisse Concretionen, die zuweilen in der Lunge und sehr häufig in der Prostata gefunden werden. Alle diese wasserhellen oder gelbbräunlichen, bis dunkelbraunen Körper werden charakterisirt durch eine concentrische Schichtung und durch eine mehr oder weniger intensive Färbung mit Jod; der Farbenton variirt von weinroth bis braunschwarz. Ueber ihre Natur und Bedeutung ist wenig bekannt, mit Amylum haben sie nichts zu thun.

c. Reaction mit Methylviolett.

1. Färben in 1procentige Methylviolettlösung 3—5 Minuten.
2. Auswaschen in destillirtem Wasser mit 1procentiger Salzsäure.
3. Untersuchung in Glycerin.

Das Amyloid ist roth mit einem Stich ins Violette, das Gewebe blau. Aehnlich wirkt Gentianaviolett und Leonhardi'sche Tinte.

Die Färbung hält sich in Glycerin einige Zeit, ebenso in gesättigter Lösung von Kali aceticum und Lävulose.

Entwässern in Alkohol und Einlegen in Canada ist unzulässig. Einbettung in Celloidin beeinträchtigt die Reaction.

d) Thioninfärbung nach Kantorowicz.[1])

1. Härtung in Alkohol oder Sublimat.
2. Einbettung in Celloidin.
3. Färbung in verdünnter oder gesättigter wässriger Thioninlösung 3—5 Minuten. Auch bei längerer Färbung tritt keine Ueberfärbung ein. Verdünnte Lösung verlangt längere Einwirkung.
4. Waschen.
5. Trocknen der Schnitte auf dem Objektträger mit Fliesspapier.
6. Aufhellen mit Anilinöl, Xylol 2:1 oder Carbolxylol (1 Gewichtstheil reine Carbolsäure auf 3 Theile Xylol).
7. Abspülen mit Xylol, Einbetten in Damar. Kerne und Bindegewebe werden blau bis violett, die mucinhaltigen Theile roth bis rothviolett, Amyloid hellblau.

e) Färbung mit Hämatoxylin und Eosin.

Die stärkere blaue Färbung der Zellen und ihrer Kerne lässt diese sehr scharf gegen das roth gefärbte Amyloid hervortreten.

f) Reaction mit Methylgrün.

Färbt, in derselben Weise wie Methylviolett angewendet, das Amyloid violett, das übrige Gewebe und die Kerne grün.

g) Reaction mit Jodgrün.

24 stündiges Färben der frischen oder gehärteten Schnitte in Jodgrün 0,5, Aq. destill. 150, dann Abwaschen in Wasser.

Das Amyloid erscheint rothviolett, das Uebrige grün. Nach Stilling ist diese Färbung sicherer als die mit Methylviolett. Glycerin.

h) Reaction mit Bismarckbraun und Gentianaviolett (Birch-Hirschfeld).

1. Färben in einer 2 procentigen alkoholischen Lösung von Bismarckbraun 5 Minuten.
2. Abspülen in absol. Alkohol.
3. Auswaschen in destill. Wasser 10 Minuten.
4. Färben in 2 procentiger Gentianaviolettlösung 5—10 Minuten.
5. Auswaschen in angesäuertem Wasser: 10 Tropfen Essigsäure auf 1 Uhrschälchen.
6. Einschluss in Lävulose.

Das Amyloid erscheint hortensienroth, das übrige Gewebe braun.

i) van Gieson's Färbung (siehe hyaline Entartung).

Amyloidsubstanz wird rosa bis braunroth.

[1]) Centralblatt für Pathologie V. Bd. 1894.

i. Glykogen.

In vielen Knorpelzellen, z. B. denen der Chorda dorsalis, der Wucherungsschicht der Epiphysenknorpel, den Zellen der Chorionzotten und anderen embryonalen Theilen (Cl. Bernard) erhält man schon im normalen geschichteten Plattenepithel (Schiele) Leberzellen (Bock und Hofmann), ganz besonders reichlich aber bei der Rhachitis, sowie in Enchondromen, üppig wuchernden Carcinomen (Schiele), eine intensiv weinrothe Färbung des Glykogens (Neumann und Jaffé) mit Jodlösung, theils der ganzen Zellsubstanz, theils einzelner Partieen derselben. Nach Brault[1]) kommt Glykogen in allen Zellen vor und findet sich besonders reichlich bei Entzündungen und rasch wuchernden Geweben. Die Reaction tritt am besten bei recht blasser Färbung der übrigen Substanz hervor; ohne Jodfärbung zeigen die glykogenreichen Partieen oft eine homogene, glänzende Beschaffenheit.

Ein grosser Theil des Glykogens wird durch wässerige Lösungen (in Alkohol abs. ist das Glykogen unlöslich) ausgezogen und entgeht in Folge dessen der Beobachtung; um die Lösung resp. Diffussion des Glykogens zu vermeiden, empfiehlt Ehrlich eine dicke Lösung von Gummi arab. mit 1 % Lugol'scher Lösung (S. 108), in welcher die Präparate direct untersucht und conservirt werden. Ehrlich fand bei Anwendung dieser Methode bei Diabetes regelmässig grosse Mengen von Glykogen in den Epithelzellen der Harncanälchen der Niere, und zwar besonders in der Grenzschicht zwischen Rinde und Mark.

Nach Gabriczewski[2]) geben auch manche Leukocyten bei verschiedenen Krankheiten (Emphysema pulm., Asthma bronchiale, Pneumonie, Carcinom, Typhus abd., Intermittens, Anämie, Chlorose, Osteomalacie und Leukämie) Glykogenreaction. Auch nach Fütterung und Injection mit Kohlehydraten und Pepton fanden sich bei gesunden Individuen vorübergehend solche auf Glykogen reagirende Zellen, die sonst vermisst wurden.

Jodglycerin (Jodjodkaliumlösung, zur Hälfte mit Glycerin versetzt) empfiehlt Barfurth[3]) zum Nachweis des Glykogens. Für die Untersuchung bei starker Vergrösserung verdient diese Methode vor der Ehrlich-schen den Vorzug, da sie klarere Bilder liefert.

Zur Aufhellung und Conservirung ist nach Langhans Origanumöl besonders geeignet. Die Entwässerung darf jedoch, da Alkohol absol. das Jod auszieht, nicht in diesem, sondern in einem Gemisch von Alkohol absol. 4 Theilen und officineller Jodtinctur 1 Theil vorgenommen werden.

---

[1]) Le Presse medicale Nr. 7. 1898.
[2]) Archiv f. exp. Pathologie. Bd. 28.
[3]) Archiv f. mikroskopische Anatomie. 1885.

k. Die Verkalkung.

Der Kalk findet sich theils in Gestalt feiner punktförmiger glänzender Körnchen, theils in grösseren Klumpen. Durch Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure von 2—5 % wird der kohlensaure Kalk unter Gasentwickelung gelöst. Verkalktes Gewebe färbt sich mit Hämatoxylin tiefblau. Diese Färbung tritt auch nach der Entkalkung ein. (Grundsubstanz des Knorpels bei der Verknöcherung.)

l. Pigmentirung.

Das Hämatoidin kommt in hämorrhagischen Heerden in Gestalt gelbrother amorpher Körner, Nadeln und rhombischer Täfelchen vor. Neben ihm finden sich noch gelbe und braune bis schwarzbraune Klümpchen und Schollen von Hämosiderin.

Der Nachweis des Hämosiderins resp. seines Eisengehaltes.

a) Nachweis durch Ferrocyankalium und Salzsäure.

Uebertragen der Schnitte in Alkohol oder Formol gehärteter Organe auf einige Minuten in eine 2 procentige wässerige Ferrocyankaliumlösung und darauf in Glycerin mit $^1/_2$ % Salzsäure. Die gelben bis braunen Schollen des Hämosiderins erscheinen blau.

1. Vorfärbung in Lithionkarminlösung mehrere Stunden.
2. Rasches Abspülen in dest. Wasser.
3. Uebertragen in 2procentige Ferrocyankaliumlösung für 4—6 Stunden.
4. Uebertragen in 1 procentigen Salzäurespiritus von 70 % für 6—12 Stunden.
5. Kurzes Abspülen in Wasser, Alkohol, Oel, Canada.

Für Kernfärbung auch Färben mit Alaunkarmin der mit Ferrocyankalium-Salzsäure behandelten und ausgewaschenen Präparate.

b) Nachweis durch Ferrocyankalium nach Zalefski.[1])

Die in Alkohol von 65 % einen Tag conservirten Stücke kommen auf 2—3 Tage in 96procentigen Alkohol mit 1 % gelbem Blutlaugensalz; dann werden sie in 65 procentigem Alkohol mit 1 % Blutlaugensalz und hierauf 2—3 Tage in Alkohol von 96 % mit 1—2 % Salzsäure gebracht.

Färbung mit Karmin.

Auch rothes Blutlaugensalz, wodurch bei Eisenoxydulverbindungen Blaufärbung, und Rhodankalium, wodurch Rothfärbung von Eisenoxydverbindungen nach Salzsäurebehandlung eintritt, kann man gebrauchen.

c) Nachweis durch Schwefelammonium. (Siderosis.)

Schwefelammonium in wässeriger Lösung ist von Quincke[2]) als

---

[1]) Zalefski empfiehlt, die Reactionen an kleinen Stücken und nicht an Schnitten vorzunehmen.

[2]) Quincke, Ueber Siderosis. D. Arch. f. klin. Med. Bd. 25.

ein Reagens auf Eisen bei pathologisch-histologischen Untersuchungen verwendet worden. Das in Form von Eisenalbuminat in den Zellen enthaltene Eisen wird durch das Schwefelammonium in schwarzgrünen Körnern (Schwefeleisen) ausgefällt. Oft erkennt man die eisenhaltigen Körner schon vor der Wirkung des Reagens an ihrer gelbbraunen Farbe; diese ist aber nicht nothwendig. Andererseits geben nicht alle gelben Pigmentkörner die schwarzgrüne Färbung mit dem Reagens. Das früher zum mikrochemischen Nachweis des Eisens verwendete Reagens, Ferrocyankalium mit Salzsäure, ist weniger günstig, weil es die Eiweisskörper koagulirt und ausserdem leicht diffuse Färbungen giebt; das gebildete Berlinerblau ist in der eiweisshaltigen, sauren Flüssigkeit doch nicht ganz unlöslich. Die schwarzgrüne Färbung der eisenhaltigen Körner mit Schwefelammonium tritt an Schnitten von Alkohol-Präparaten in wenigen Minuten ein und bleibt wochenlang erhalten.

d) Nachweis durch Schwefelammonium nach Quincke.

1. Die Schnitte kommen auf 5—20 Minuten in eine frisch bereitete Lösung von Schwefelammonium. Sobald sie eine dunkel- oder schwarzgrüne Farbe angenommen haben, wird
2. rasch in Wasser abgespült.
   Das Abspülen in Wasser darf nur kurze Zeit dauern, weil das gebildete Schwefeleisen bei Entfernung sämmtlichen Schwefelammoniums oxydirt und entfärbt wird. Quincke hält das ältere bereits gelb gewordene Schwefelammonium für geeigneter als das frische. Die Reaktion tritt bei stärkerer Concentration und Zusatz von etwas Ammoniak rascher ein.
3. Untersuchung in Glycerin, das etwas Schwefelammonium enthält oder nach dem Abspülen in Wasser, Alkohol, Oel, Canada.

Das Eisen erscheint in kleinen schwarzen oder schwarzgrünen Körnchen.

e) Nachweis durch Schwefelammonium nach Zalefski.

Die in Alkohol von 65% 1 Tag lang aufbewahrten Stücke kommen auf 24 Stunden in Alkohol von 96%, dem einige Tropfen gelbes Schwefelammonium zugesetzt sind. Nach öfterem Schütteln wird in Alkohol absol., der mit einigen Tropfen Schwefelammonium versetzt ist, gehärtet.

Der Alkohol muss das Gefäss bis zum Rand füllen, um den oxydirenden Einfluss der Luft auszuschliessen, und das Glas darf nicht mit Korkpfropfen verschlossen sein. Diese geben mit Schwefelammonium Eisenreaction.

f) Nachweis des Eisens durch Schwefelammonium nach Hall.

Da Eisen schon bei der Härtung und weiter bei dem Auswaschen entzogen wird, empfiehlt Hall eine Härtungsflüssigkeit, welche das Eisen in einen unlöslichen Zustand überführt, nämlich

1. Lösung von Schwefelammonium . . . . . 5 ccm,
2. Alkohol absol. . . . . 70 „
3. Wasser . . . . . 25 „

Conservirung kleiner Stücke 24 Stunden, dann 70—80—90% Alkohol.

Das Eisen erscheint in schwarzen oder schwarzgrünen Körnchen.

Die Anfangs grünlich gefärbten Stückchen bleichen später in Folge von Umwandlung des FeS in Fe (OH_2), welches schwer sichtbar ist. Durch gelbes Blutlaugensalz wird das Eisen deutlich.

Die normalen, rothen Blutkörperchen geben die Reaktion nicht, woraus zu entnehmen ist, dass das Eisen nicht aus jeder Verbindung durch das Schwefelammonium ausgefällt wird. Die in der Leber durch NH_4 S nachweisbaren eisenhaltigen Körnchen leitet Quincke von zerfallenen rothen Blutkörperchen ab. In Folge von Transfusionen, sogen. künstlicher Plethora, steigert sich der Zerfall der rothen Blutkörper sehr erheblich, demgemäss findet sich dann auch eine entsprechende Steigerung der physiologischen Siderosis; die Eisenkörnchen sind in der Leber im Innern von weissen Blutkörperchen in den Kapillaren enthalten; in der Milz und im Knochenmark liegen sie innerhalb der Pulpazellen. Ebenso findet sich eine sehr reichliche Siderosis bei den analogen Zuständen des Menschen, d. h. in Fällen, in denen ein reichlicher Zerfall der rothen Blutköprerchen stattfindet, besonders bei der perniciösen Anämie; hier ist das Eisen in den Leberzellen und in den Lebercapillaren, im perivaskulären Bindegewebe der Leber, in den Drüsenzellen des Pankreas, den Epithelien einzelner, gewundener Harncanälchen, ausserdem auch in Milz und Knochenmark nachweisbar.

Nicht alle eisenhaltigen Pigmente geben die Eisenreaktion. Bei frischen und älteren Pigmenten bleibt sie meist aus, vormuthlich weil die Verbindung des eisenhaltigen Pigments mit dem Gewebe eine sehr innige ist.

Die Pigmententartung.

Zur Färbung in Pigmentatrophie begriffener wie pigmenthaltiger Organe (Melanosarkome etc.) eignen sich mehr die rothen wie die blauen Farbstoffe, welche letztere das Pigment leicht verdecken. (Alaunkarmin, Lithionkarmin, Boraxkarmin.) Alaunkarmin ist vorzuziehen, weil das Auswaschen in Salzäure hier unnöthig ist. Das autochthone Pigment giebt nur ausnahmsweise Eisenreaction.

3. Kapitel.

Nachweis und Färbung der Spaltpilze in Flüssigkeiten und Geweben.

Nachweis der Spaltpilze in ungefärbtem Zustande.

a) In Flüssigkeiten.

Vor Allem ist jede Verunreinigung strengstens zu vermeiden; schon bei dem Auffangen der Flüssigkeit muss auf absolute Sauberkeit der Gefässe, Canülen etc. geachtet werden. Weiterhin ist die Untersuchung stets in vollkommen frischem Zustande auszuführen, denn schon in wenigen Stunden können sich bei geeigneter Temperatur Mikroorganismen in grosser Zahl entwickeln, da ihre Keime überall verbreitet sind. Es bedarf ganz besonderer Vorsichtsmaassregeln, u. A. Erhitzen sämmtlicher Geräthe auf mehr als 100° durch längere Zeit, um Flüssigkeiten ohne Beimengung von accidentellen Keimen kleinster Organismen aufzufangen und zu conserviren. Bei der Untersuchung von Leichenmaterial werden wir die Möglichkeit einer postmortalen Entwickelung der Mikroorganismen zu berücksichtigen haben. Die Flüssigkeitsprobe wird mittels eines in einem Glasstab befestigten durch Hitze sterilisirten Platindrahtes entnommen.

1. Die Untersuchung der Flüssigkeit auf dem Objektträger geschieht zunächst direct, ohne jeden Zusatz; in diesem Falle ist man dann ganz sicher, dass die etwa gefundenen Organismen wirklich der Flüssigkeit selbst angehören. In vielen Fällen erkennt man sie an ihren lebhaften Bewegungen.

2. Die Untersuchung im hängenden Tropfen ermöglicht die Organismen längere Zeit und unter verschiedenen Bedingungen (wechselnder Temperatur etc.) zu beobachten. Besonders um die Art der Bewegung zu verfolgen, ist diese Untersuchungsmethode nicht zu entbehren.

Die Vertiefung des Objektträgers wird mit etwas Vaseline umrandet, der zu untersuchende Flüssigkeitstropfen wird auf die Mitte des Deckglases gebracht und dieses dann auf den Objektträger mit dem Tropfen nach unten so gelegt, dass dieser in die Mitte der Aushöhlung zu liegen kommt. Oder man drückt den mit Vaseline benetzten Objektträger (Höhlung nach unten) an das horizontal mit dem Tropfen nach oben liegende Deckgläschen und wendet den Objektträger rasch um. War das Tröpfchen nicht zu gross, so bleibt es am Deckglas hängen.

Man untersucht dann zuerst mit der Trockenlinse bei enger Blende und dann erst mit Immersion die Randpartien des Tropfens.

Bei diesen Untersuchungen sowohl auf dem gewöhnlichen wie dem ausgehöhlten Objektträger ist dafür zu sorgen, dass die Zahl der Organismen keine zu grosse ist, damit auch die einzelnen Individuen beobachtet werden können.

Da kleine, in Flüssigkeiten suspendirte Körper fast stets eine tanzende unter Umständen sehr lebhafte Bewegung zeigen (Brown'sche Molekularbewegung), ist bei diesen Untersuchungen grosse Vorsicht geboten.

Von der Energie dieser grösstentheils wohl durch Verdunstungsströme etc. hervorgerufenen Bewegungen macht man sich gewöhnlich nicht die richtige Vorstellung; um eine Anschauung davon zu gewinnen, vertheile man ganz fein pulverisirtes Karmin in einem Wassertropfen und untersuche diesen mit starker Vergrösserung; man wird zu Anfang im höchsten Grade erstaunt sein über die Rapidität und scheinbare Spontaneität der passiven Bewegungen der Karminkörner. Ehe man also ein Urtheil über „spontane Bewegungen" von Körnchen etc., die man als Mikroorganismen anzusprechen geneigt ist, wagt, ist es rathsam, sich mit den Brown'schen Molekularbewegungen vertraut zu machen. Glaubt man dennoch es mit vitalen Bewegungen zu thun zu haben, so muss man dies noch erhärten, indem man den Nachweis führt, dass die Bewegung aufhört, wenn man Bedingungen einführt, die mit dem Leben der Organismen unvereinbar sind; also z. B. Erwärmung, Behandlung mit starken Säuren und Alkalien.

Während die meisten der uns interessirenden Mikroorganismen (es kommen hauptsächlich Schimmelpilze, Hefe- oder Sprosspilze und Spaltpilze in Betracht) gegen Säuren und Alkalien sehr resistent sind, machen die Spirochäten des Rekurrensblutes eine Ausnahme, indem sie in allen differenten Reagentien, sogar schon in destillirtem Wasser, sehr rasch zu Grunde gehen.

b) Nachweis der Spaltpilze in ungefärbtem Zustande in Geweben.

In den Geweben sind die Spaltpilze schon wegen ihrer geringen Grösse einzeln schwer zu erkennen. Durch Zerzupfen kleiner Gewebspartien mit sterilen Instrumenten können sie auf dem Objektträger in einem Tropfen Leitungswasser isolirt werden. Für ihren Nachweis benutzen wir gewöhnlich eine Eigenschaft derselben: die Resistenz gegen Säuren und Alkalien. Ein Schnitt von einem frischen oder in Alkohol gehärteten Präparat[1]) wird durch starke Essigsäure oder durch (verdünnte etwa 2procentige) Kali- resp. Natronlösung fast vollständig durchsichtig. Unter den wenigen, bei dieser Behandlung resistirenden Elementen heben sich die Spaltpilze sofort hervor:

1. Durch charakteristische Form der einzelnen Organismen.

Dies trifft vor Allem für die Bacillenformen zu; hier liegt höchstens die Möglichkeit vor, dass kleine Krystalle Anlass zu Verwechselungen geben.

In der That kann man z. B. die Bacillen des Ileotyphus und der Tuberkulose auf diese Weise in den Organen demonstriren; Schnitte von

[1]) Härtung in Chromsäure, Müller'scher Lösung etc. ist für die Untersuchung auf Spaltpilze nicht geeignet, da durch die Chromwirkung in den Geweben dunkle, schwer aufzuhellende Körnungen entstehen.

Präparaten, die zu lange Zeit in Alkohol gelegen haben, hellen sich gewöhnlich nicht mehr vollständig auf, indessen gelingt es fast immer durch eine kurzdauernde Erwärmung des mit Kalilauge oder Essigsäure behandelten Präparats bis zur beginnenden Blasenbildung.

2. Durch charakteristische Zusammenlagerung der einzelnen Organismen, durch ihre Gruppenbildung; und zwar handelt es sich hierbei entweder um Ketten (Diplokokken, Streptokokken etc.) oder um sogen. Colonieenbildung (Gliakokkus etc.). In diesen Fällen wird wohl nur selten die Möglichkeit einer Verwechselung mit organischen Niederschlägen vorliegen; von feinsten Fetttropfen unterscheiden sie sich sofort dadurch, dass sie dem Entfettungsverfahren mit Aether und Chloroform widerstehen.

Erleichtert wird die Erkennung der Mikrokokkenketten und -Haufen durch den eigenthümlichen Glanz der einzelnen Körnchen, eventuell durch die bräunliche Färbung derselben, die übrigens nur bei bestimmten Arten und nur dann auftritt, wenn sie in grösserer Zahl über einander liegen, ferner durch die annähernd gleichmässige Beschaffenheit, sowie die bei starker Vergrösserung sichtbare scharfrandige Begrenzung der einzelnen Organismen. Die volle Sicherheit, dass es sich wirklich um Organismen handelt, erlangt man, wenn es gelingt, den Beweis des Wachsthums zu erbringen. Dies ist dann möglich, wenn die Organismen im Innern von Gefässen zur Entwickelung kommen, indem sie bei ihrem Wachsthum die Gefässlumina in ungleichmässiger Weise ausdehnen; durch ihr Wachsthum innerhalb der Gefässe entstehen an diesen varicöse Auftreibungen. Dies findet sich sehr häufig in Fällen von metastasirender Pyämie, Endocarditis ulcerosa etc., an den Blutgefässen, Capillaren, kleinen Venen und an den Lymphgefässen der Lunge bei der acuten, croupösen Pneumonie. Schon früher waren solche Formen von „capillärer Embolie“, mit ungleichmässiger Erfüllung der Capillaren mit körnigem Material, gesehen worden, man wusste auch bereits, dass diese Embolieen zu Entzündungsherden führen; indessen bezeichnete man dieses körnige Material als Detritus, bis dann v. Recklinghausen, sehr bald nachher auch Klebs, Waldeyer u. A., gestützt wesentlich auf die varicöse Form der Injektion, zu der Erkenntniss gelangten, dass die „Detrituskörner“ lebende, parasitäre Organismen, Mikrokokken darstellen. Denn nur eine Substanz, der eine eigene Wachsthumsfähigkeit zukommt, kann eine derartige, ungleichmässige, knotige Form der Gefässinjektion bedingen.

Nachdem dieser Nachweis einmal gesichert ist, brauchen wir natürlich nicht mehr in jedem einzelnen Falle die Wachsthumserscheinungen nachzuweisen, um die Diagnose auf „Mikrokokkencolonie“ zu stellen; wenn wir in einem Schnitt, der von einem frischen oder in Alkohol gehärteten Organ herrührt, Haufen oder Ketten

kleiner Körnchen finden, die unter sich von annähernd gleicher Grösse sind, die sowohl der Behandlung mit Alkohol und Aether, als auch der energischen Einwirkung von concentrirter Essigsäure und der Alkalien auch beim Erwärmen widerstehen, so sind wir berechtigt, die Körner als Organismen anzusprechen.

In allen wichtigen, irgendwie zweifelhaften Fällen werden wir natürlich nicht verfehlen, auch die Färbungs-Reaction und das Culturverfahren vorzunehmen.

Betreffs der Züchtung der Spaltpilze verweisen wir auf die Arbeiten von Robert Koch in den Mittheilungen des Reichsgesundheitsamtes, auf Hüppe, die Methoden der Bakterienforschung, auf den Grundriss der Bakterienkunde von Carl Fränkel, auf Günther's und Heim's Bakteriologie, auf Baumgarten's Lehrbuch der pathologischen Mykologie und dessen Jahresbericht der pathologischen Mykologie, auf Flügge's Buch „Die Mikroorganismen" u. A.

Nachweis der Spaltpilze durch das Färbungsverfahren.[1])

Allgemeines.

Die Spaltpilze verhalten sich im Allgemeinen zu den Farbstoffen sehr ähnlich, wie die Kernsubstanz, von der sie sich doch sonst durch ihre Resistenz gegen Alkalien, in denen die Kerne sofort gelöst werden, unterscheiden. Die Methoden der Kernfärbung sind demnach auch für die Färbung der meisten Schizomyceten anzuwenden; und da wir es hier mit sehr kleinen Körperchen zu thun haben, so werden wir suchen, die möglichst intensive Färbung derselben zu erreichen; dazu sind nun die Färbungen mit Hämatoxylin und den kernfärbenden Karminfarben weniger geeignet, als die basischen Anilinfarbstoffe (Weigert). Wir benutzen demnach dünne, wässerige Lösungen derselben (ein grösserer Zusatz von Alkohol als etwa 10 % beeinträchtigt das Färbungsvermögen der Lösung[2]). Die Färbung dauert einige Minuten bis eine halbe Stunde oder länger; das nachherige Entfärben in reinem Alkohol darf nicht zu lange fortgesetzt werden, da zuweilen auch die Färbung der Schizomyceten

---

[1]) Vergl. neben den oben genannten Werken auch H. Kühne, Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im thierischen Gewebe. Wiesbaden. 1888.

[2]) Eine concentrirte, alkoholische Lösung, welche überschüssigen Farbstoff enthält (Stammflüssigkeit), wird nach einigen Tagen filtrirt. Diese Lösung wird mit filtrirtem destillirtem Wasser soweit verdünnt, dass eine circa 1 cm hohe Schichte derselben noch eben durchsichtig ist. Für manche Fälle ist es gerathen, nur die frisch hergestellte Farblösung zu gebrauchen. Filtriren der Lösung ist nicht immer nöthig, wenn man nur Sorge trägt, dass der mit der Zeit sich bildende Bodensatz ruhig bleibt. Ein sehr einfaches Filtrationsverfahren besteht darin, dass man das zu färbende Präparat mit einem kleinen Stückchen Filtrirpapier bedeckt, den Farbstoff darauf träufelt und dann abspült.

durch den Alkohol allmählich blässer wird; die Untersuchung geschieht dann in Wasser, ätherischem Oel resp. Kanadabalsam und bei voller Abbe'scher Beleuchtung, mit offenem Kondensor. Welchen der oben aufgeführten Farbstoffe man benutzt, ist meist von geringem Belang; Gentianaviolett oder Fuchsin geben gewöhnlich die kräftigste blaue resp. rothe Färbung, nur färbt sich bei beiden auch der Grund mit, während Methylenblau nur Kerne und Spaltpilze färbt, jedoch an Haltbarkeit zu wünschen übrig lässt. Bismarckbraun ist jetzt weniger im Gebrauch, seit die Braunfärbung der Bakterien für photographische Zwecke nicht mehr nöthig ist.

Verwechseln könnte man die gefärbten Mikrokokken — die Bacillen sind wohl unverkennbar — entweder mit Kernrudimenten (s. oben), die sich aber durch ihre sehr verschiedene Grösse und durch die Lagerung an der Stelle des früheren Kerns meist sofort kennzeichnen, oder mit den Körnern der Mastzellen; die letzteren sind aber in Folge ihrer Gruppirung um den centralen, ungefärbt gebliebenen Kern ebenfalls leicht als solche zu erkennen. Wer allerdings nicht an Genauigkeit im Arbeiten und Beobachten gewöhnt ist, für den liegen noch eine Reihe von Schwierigkeiten in der Erkennung dieser Dinge vor. Bleiben die Schnitte statt in Alkohol tagelang in unreinem Wasser liegen, so sammeln sich auf beiden Oberflächen und an den Rändern dann reichliche Schizomyceten an, die, wenn der Schnitt nachträglich gefärbt wird, zu Verlegenheiten in der Deutung Veranlassung geben.

Aber nicht sämmtliche parasitäre Mikroorganismen färben sich auf diese Weise. Gefärbt werden zunächst die Mikrokokken und zwar, soweit bis jetzt bekannt, die sämmtlichen Mikrokokkenarten, sofern sie nicht abgestorben sind; denn die Fähigkeit, den Farbstoff aufzunehmen resp. festzuhalten, verlieren sie nach dem Absterben; man erhält nicht selten im Innern von Organen neben intensiv gefärbten Mikrokokken- und Bacillenhaufen auch viel blasser gefärbte, selbst ganz farblose Körnerhaufen, die man mit grösster Wahrscheinlichkeit als abgestorbene Mikrokokken ansprechen darf. Auch in Mikrokokkenketten kommen Unterschiede in der Intensität der Färbung an den einzelnen Gliedern der Kette zur Beobachtung, die wohl ebenso aufzufassen sind.

Immerhin ist es nicht unmöglich, dass an den verschiedenen Mikrokokkenspecies bei weiterem Studium auch Differenzen der Färbbarkeit sich ergeben; bis jetzt ist davon indessen noch wenig bekannt.

Eine besondere Stellung nehmen die Spirillen des Rekurrens ein. Den meisten Untersuchern ist es überhaupt nicht gelungen, dieselben im Innern der Organe in situ nachzuweisen. Sie sind anders constituirt wie die meisten übrigen Schizomyceten, sie werden durch Säuren und Alkalien, ja schon durch destillirtes Wasser schnell zerstört und nähern sich also viel mehr dem Verhalten des Protoplasmas als dem der Kernsubstanz.

Die Bacillen verhalten sich verschieden. Die gewöhnlich bei der Leichenfäulniss auftretenden, sowie die Bacillen des Milzbrandes werden intensiv gefärbt. Die Typhusbacillen färben sich etwas weniger stark; indessen tritt auch dieser kleine Unterschied, wenn man die Färbung in der Wärme vornimmt, vollständig zurück.

Die Leprabacillen färben sich mit Gentianaviolett, Methylviolett, Fuchsin und Gram, und zwar leichter als die Bacillen der Tuberkulose, dagegen nicht in Bismarckbraun.

Verstärkung und Beschleunigung der Färbung wird erzielt

1. durch längere Einwirkung der Farbstoffe;
2. durch Erwärmung für längere Zeit bei Brutofentemperatur oder durch kurzes Erwärmen über der Spiritusflamme, bis von der Farbflüssigkeit Dämpfe sich entwickeln;
3. durch Zusatz von Kali- oder Natronlauge in der Wärme (siehe Löffler's Methylenblaulösung). Vielleicht wird durch das Alkali die Bakterienhülle für den Farbstoff durchlässiger;
4. durch Stoffe, die nach Art von Beizen wirken. Dahin gehört das Anilinöl resp. das Anilinwasser, worin die Farbe gelöst wird (Anilinwasserfuchsin, Anilinwassergentianaviolett[1]);
5. Das Phenol (Carbolfuchsinlösung, Carbolmethylenblau)

Fuchsin	1 gr
Alkohol	10 ccm
Acid. carbol. liquef.	5,5 „
Aq. destill. . . .	84,5 „

Nach 24stündigem Stehen ist die Mischung verwendbar für Monate. Präparate, welche nicht in Säure entfärbt werden, werden leicht überfärbt. Man lässt Carbolfuchsin deshalb nur flüchtig einwirken und entfärbt durch verdünnten Alkohol oder verdünnt, je nachdem, bis auf das Doppelte mit Wasser und färbt dann $^1/_2$—15 Minuten.

An Stelle des Alkohols im Karbolfuchsin benutzt Czaplewski Glycerin, wodurch Niederschläge vermieden werden.

In eine nicht zu kleine Reibschale wird 1 gr Fuchsin mit 5 ccm Acid. carbol. liquef. gut verrieben. Sobald die Krystalle gelöst sind, wird unter fortwährendem Reiben Glycerin pur. 50 ccm zugesetzt. Die Lösung wird mit 100 ccm Aq. dest. verdünnt.

---

[1]) Ein Reagenzglas wird zur halben Höhe mit Aq. destill. gefüllt und dazu soviel helles Anilinöl gegeben, dass der Grund des Glases damit bedeckt ist (5 Thl. Anilinöl, 100 Thl. Wasser). Hierauf wird 10 Minuten geschüttelt und dann die opalescirende Flüssigkeit durch ein gut mit Aq. destill. befeuchtetes Filter geschickt. Die Filtration wird unterbrochen, damit keine Oeltropfen durchfiltriren. Zu 100 ccm dieses Anilinwassers kommen 10—11 ccm der concentrirten alkoholischen Farbstofflösung, welche filtrirt wird. Die Lösung ist nur einige Tage haltbar.

Carbolmethylenblau (Methylenblau 1,5, Alkohol 10 wird verrieben und allmählich 5 % Carbollösung 100 zugesetzt) wurde als Universalfärbungsmittel von Kühne eingeführt.

Die Färbung wird nach Unna besonders begünstigt durch die Anwendung einer Farblösung im Stadium der sogen. Schwebefällung (durch Zusatz von Natronlauge). .

Ausser den oben angeführten, nach Art von Beizen wirkenden Flüssigkeiten finden noch andere, wie z. B. Ferritannat vor der Färbung Anwendung (siehe Geisselfärbung).

Entfärben und Differenziren. Um Spaltpilze und Gewebe von einander unterscheidbar zu machen, ist eine Entfernung des überschüssigen Farbstoffs nöthig. Wir können denselben so weit entfernen,

1. dass er nur noch die Organismen und Kerne färbt: Kern- und Bakterienfärbung; oder
2. dass lediglich die Organismen gefärbt bleiben: isolirte Bakterienfärbung; oder endlich
3. können wir den aus einem Theil ausgezogenen Farbstoff durch einen anderen ersetzen: Doppelfärbung.

In manchen Fällen genügt längeres Waschen der Präparate in Wasser zur Entziehung des überschüssigen Farbstoffs, um eine Differenzirung zu erhalten. Rascher (in Sekunden und Minuten) wird diese erreicht durch

A. Entfärbung und Differenzirung mit Säuren oder Alkohol und zwar durch:

1. circa 2—5procentige wässerige Essigsäure.
2. (Mineralsäuren, Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure) (3—20 %). Die letztgenannten Säuren wirken eingreifender und sind darum mit Vorsicht zu gebrauchen, insbesondere gilt dies von der Salpetersäure.
3. Salzsäure-Alkohol (100 Thle. Alkohol absol., 3 Thle. Salzsäure).
4. Alkohol[1]).

Der Farbstoff wird dann den Zellen und der Grundsubstanz entzogen, während er in den Kernen und Organismen bleibt.

B. Entfärbung durch Salze. Zu den entfärbenden Mitteln gehört auch Jodkalium in wässeriger Lösung und das Jodjodkalium (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300), besonders für Präparate, welche mit Anilinwasser-Gentianaviolett behandelt sind (s. Gram'sche Methode). Das Verfahren beruht zum Theil auf der entfärbenden Wirkung der Jodkaliumlösung, zum Theil verdankt es dem freien Jod die besondere Intensität der Färbung des einzelnen Spaltpilzes.

---

[1]) Der absolute Alkohol vermag aus der trockenen gefärbten Zelle den Farbstoff nicht auszuziehen (Günther). Erst wenn er mit Wasser verdünnt wird, entfärbt er.

Entfärbung der Kerne wird auch durch andere Salze erzielt, wie durch Palladiumchlorid (für Tuberkelbacillen-Färbung), Liquor ferri, Kalium bichrom., Argentum nitric., Eisenalaun, Kalium hypermaganic., Chlornatrium, kohlensaures und schwefelsaures Natron, Magnesiasalze, Alaun, kohlensaures Lithion in 1procentiger oder noch schwächerer Lösung[1]).

C. Entfärbung durch Oele, wie Nelken- und dunkles Origanumöl.

D. Differenzirung durch partielle Umfärbung. Die Methode beruht auf dem Principe der Verdrängung der ersten Farbe durch die Gegenfarbe mittelst Elektion.

Hier wird die partielle Entfärbung, resp. Umfärbung durch andere (zum Theil zur Gruppe der sauren Anilinfarben Fluorescëin und Tropaeolin gehörende) Farbstoffe erreicht, z. B. Verdrängung des Fuchsins durch Löffler's Methylenblau. Das Fuchsin wird dem Präparat zum Theil durch das Methylenblau genommen, worauf dieses erst das Präparat zu färben vermag. Es geht also hier eine Entfärbung der späteren Färbung voraus. Alkalisches Methylenblau wird durch nachfolgende Färbung mit Bismarckbraun z. Th. wieder verdrängt, so dass in dem blau vorgefärbten Präparat nur noch die Bacillen blau, das Uebrige braun gefärbt erscheint. Czaplewski benutzt zur Differenzirung der mit Karbolfuchsin vorgefärbten Präparate Fluorescëin-Alkohol[2]), der als schonendes Entfärbungsmittel schon von Kühne empfohlen wurde, in Verbindung mit alkoholischem Methylenblau zur partiellen Entfärbung[3]). Diese Mischung besitzt wenig eigene Färbekraft, löst dagegen das Fuchsin. —

Die starke Entfärbung bei der Entwässerung mit Alkohol sucht Kühne durch Zusatz der gleichen Farblösung, worin die Schnitte gefärbt wurden, abzuschwächen, um so einen Theil des durch Alkohol entzogenen Farbstoffs dem Schnitte wiederzugeben.

Noch besser ist es, durch gefärbten Alkohol nur das oberflächlich dem Schnitte anhaftende Wasser zu entfernen, die vollkommene Entwässerung aber durch Anilinöl vorzunehmen.

Alkoholische Lösungen saurer Farbstoffe finden Anwendung bei Bakterien, welche die Farbe festhalten. Bei denjenigen, welche dagegen leicht entfärbt werden, wird besser eine Lösung des sauren resp. basischen Farbstoffes in Nelkenöl, Fluorescëin-Nelkenöl, Eosin-Nelkenöl oder Anilinöl angewandt.

[1]) Die entfärbende Wirkung kommt also auch reducirenden Salzen zu und beruht darum nicht auf einer Oxydation. Gottstein, Fortschr. d. Med. 1885. S. 627.

[2]) Fluorescëin-Alkohol. 1,0 gr gelbes Fluorescëin wird mit 50,0 ccm absol. Alkohols verrieben, das Ganze in ein Fläschchen gegossen, in welchem sich später der unaufgelöste Theil absetzt. Die ausziehende Kraft des Fluorescëin-Alkohols ist gering.

[3]) Siehe auch Czaplewski's Verfahren der Tuberkelbacillenfärbung.

Nachbehandlung der Präparate. Nach der Entfärbung können die Präparate sofort untersucht werden. Für Deckglaspräparate genügt schon Wasser, wenn man sie nicht aufbewahren will, oder Oel, Bergamottöl, Cedernöl. Im letzteren Falle lässt man sie nach dem Auswaschen vollständig trocknen. Für längere Conservirung schliesst man in Xylolkanadabalsam ein.

Schnittpräparate müssen vor dem Einlegen in Oel entwässert werden. Hierzu dient Alkohol. Man kann sie aber auch über der Flamme austrocknen oder, wenn die Anwendung des Alkohols wegen weiterer Entfärbung contraindicirt ist, durch Betupfen mit Fliesspapier soweit trocknen, dass sie in Oel oder Xylol vollständig aufgehellt werden. Da Oele sich keineswegs indifferent der Färbung gegenüber verhalten, ist an deren Stelle das Xylol oft vorzuziehen.

Einfache und Doppelfärbung. Obgleich die einfache Färbung, sei es als isolirte Bakterienfärbung oder als Bakterien- und Kernfärbung, in vielen Fällen ausreicht, wird durch die Anwendung einer zweiten Farbe (Gegenfarbe) nicht nur das Auffinden der Organismen (wie im Sputumdeckglaspräparat) erleichtert, sondern erst das Detail der Gewebsstrukturen und deren Veränderungen besser erkannt.

Als solche Gegenfarben benutzen wir entweder diffus färbende Stoffe, wie Eosin oder Kernfarben. Bei der Doppelfärbung geht

a) die Kern- und Grundfärbung der Bakterienfärbung voraus, oder
b) die Kern- und Grundfärbung folgt der Bakterienfärbung.
c) Bakterien-, Kern- und Grundfärbung erfolgt gleichzeitig durch Gemische von Anilinfarben.

Da bei der Doppelfärbung aber leicht die vorausgegangene Bakterienfärbung mehr oder weniger verdrängt wird (siehe Entfärben durch partielles Umfärben S. 192), wird, falls dies nicht gerade behufs der Entfärbung beabsichtigt ist, die Kernfärbung besser vor der Bakterienfärbung ausgeführt, wie z. B. bei dem Gram'schen Verfahren.

Methoden der Doppelfärbung bei Spaltpilzpräparaten.

a) Kern-, Zellen- oder Grundfärbung mit nachfolgender Bakterienfärbung.

1. Pikrokarmin und Bakterienfärbung durch Gram'sches Verfahren.
2. Pikrokarmin oder Lithionkarmin und Bakterienfärbung durch Anilinwasser-Gentianaviolett (nach Weigert).
3. Eosin (Grundfärbung) und Bakterienfärbung mit Methylenblau (Gonokokken).

b) Bakterienfärbung mit nachfolgender Grund- event. Kern- und Zellfärbung.

1. Methylenblaufärbung nach Kühne. Nachfärbung in Safranin (Rotzbacillen).
2. Fuchsin (Karbol- oder Anilinwasserfuchsin). Nachfärbung mit Methylenblau oder Malachitgrün (Tuberkelbacillen).
3. Gentianaviolett (Anilinwasser oder Karbolwassergentianaviolett). Nachfärbung mit Bismarckbraun (Tuberkelbacillen).
4. Gram'sche Färbung (Anilinwasser-Gentianaviolett, Jodjodkalilösung). Nachfärbung in Bismarckbraun.
5. Methylenblaufärbung nach Kühne. Nachfärbung in Chlorhydrinblau (für viele Spaltpilze anwendbar).
6. Gentianaviolett, Grundfärbung durch Eosin.

Färbung der Bakterien in Flüssigkeiten (Deckglas-Trockenpräparat, Ausstrichpräparat).

Um Bakterien in Flüssigkeiten zu färben, fertigt man ein Trockenpräparat an. Man streicht eine dünne Lage der betreffenden Flüssigkeit (falls sie an geformten Bestandtheilen reich ist, nach Verdünnung mit Wasser) mit der Platinöse über das Deckglas oder einen Theil des Objektträgers, oder indem man ein Tröpfchen der Flüssigkeit auf ein Deckglas bringt, dieses mit einem zweiten Deckglas bedeckt und beide Gläser von einander abzieht.

Etwas schonender ist folgendes Verfahren: Man berührt mit einem Deckgläschen die Kuppe eines Tropfens der zu untersuchenden Flüssigkeit (Blut) und fährt nun mit dem Rande eines zweiten, das zu dem ersten unter einem Winkel von 45° gehalten wird, über das erste. Die Flüssigkeit wird so in dünner Schicht ausgebreitet.

Schleim wird mit der Platinnadel auf dem Deckgläschen hin- und hergeschoben, bis er sich etwas vertheilt hat. Auf zähe Klümpchen richtet man aus dem Ballongebläse einen Luftstrom von oben, wodurch die Ausbreitung erfolgt. Darauf breitet man wieder eine Schicht mit der Platinnadel aus und vertheilt den Rest durch Blasen in der oben angegebenen Weise.

Darauf lässt man das Deckgläschen an der Luft trocknen. Wollte man nun jetzt färben, so würde bald die angetrocknete Flüssigkeit sich ablösen. Wir können aber durch Erwärmen die eiweisshaltige Flüssigkeit, ohne wesentlich die Formen der einzelnen Theile zu schädigen, auf dem Deckplättchen fixiren. Das Präparat muss jedoch vollkommen lufttrocken sein, denn sonst wird das Eiweiss nicht homogenisirt, sondern coagulirt.

Wir erhitzen zu dem Zweck die Deckgläser 20 Minuten bis zu 120°; wir erreichen dies jedoch auch dadurch, dass wir 3mal, je eine Sekunde, das Deckglas mässig schnell mit der angetrockneten Schicht

nach oben durch den nicht leuchtenden Theil der Flamme eines Bunsen-schen Brenners oder etwas länger durch eine Weingeistflamme ziehen. Zu langes Erhitzen erschwert die Färbung.

Manche Organismen, z. B. Recurrens-Spirillen, vertragen Erwärmen schlecht. Diese werden, nachdem sie lufttrocken sind, durch eine Mischung von Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen (mehrere Stunden bis einen Tag) fixirt.

Um die plasmatischen Flüssigkeiten vom Deckgläschen zu entfernen und dadurch klarere Bilder zu erhalten, behandelt Günther die fixirten Deckglaspräparate mit 1—5procentiger Essigsäure. Nach sorgfältiger Entfernung dieser durch Abwaschen werden die Präparate gefärbt.

Da längere Zeit angetrocknete Präparate das Plasma schwer an Essigsäure abgeben, wird durch 2—3procentige wässrige Pepsinlösung das Plasma erst peptonisirt.

Färben und Nachbehandlung. Das Deckglas mit der fixirten Schichte nach unten wird in ein mit der Farbflüssigkeit gefülltes Uhrschälchen übertragen, so dass es schwimmt, oder man tropft auf das in der Cornet'schen Pincette befindliche Deckgläschen etwas Farblösung. Für kurze Erhitzung wird das mit der Farblösung betropfte Präparat, sei es in dem Schälchen oder in der Pincette, erwärmt, bis 2—3mal Dämpfe aufsteigen. Man sorge dafür, dass die Flüssigkeit nie ganz verdampft. Hierauf Abspülen in Wasser, eventuell zur stärkeren Entfärbung Alkohol.

Die Färbung in der Wärme nimmt man im Brutschrank in bedeckten Schalen vor. Bei Anwendung höherer Temperaturen kocht man die Farblösung mit Deckplättchen über einem Drahtsieb oder einer Asbestschale. Sehr vortheilhaft ist für diesen Zweck besonders bei Massenfärbung der Hofmeister'sche Apparat (siehe Tuberkelbacillenfärbung), der ein mehrstündiges Kochen bequem gestattet.

Nach 1—2 Minuten bis 1—3 Stunden langer Färbung wird in einer grösseren Schale mit Wasser durch Hin- und Herbewegen des Glases oder mit Spritzflasche so lange abgespült, bis keine Farbe mehr abgegeben wird.

Man lässt hierauf das Präparat trocknen oder trocknet durch aufgelegtes Fliesspapier, oder leichtes Erwärmen über der Flamme. Hierauf Untersuchen in Wasser oder besser in Oel, und für Conservirung Einschluss in Kanada.

Das Verfahren bei Färbung des Trockenpräparates ist demnach folgendes:

1. Ausbreiten der Flüssigkeit oder des Gewebssaftes auf dem Deckglase und Antrocknen derselben.
2. 3maliges Ziehen durch die Gasflamme, öfteres durch die Weingeistflamme.
3. Färben 1—3 Minuten, eventuell im Wärmeschrank oder über der Flamme, bis Dampfbildung erfolgt, oder 2—3maliges Aufkochen.

4. Abspülen in Wasser, eventuell zum stärkeren Entfärben in angesäuertem Wasser (2 Tropfen Essigsäure auf 100 Wasser) oder in Alkohol.
5. Trocknen.
6. Untersuchen in Wasser, Oel oder Kanadabalsam.

Bei diesem Verfahren färben sich neben den Spaltpilzen auch noch andere Dinge, Zellkerne und deren Fragmente, protoplasmatische Theile etc. Um isolirte Färbung der Bakterien ohne Kernfärbung zu erhalten, wird das Deckgläschen aus der Farbe auf eine Minute in gesättigte Lösung von kohlensaurem Kali, mit der Hälfte destillirtem Wasser verdünnt, gebracht. Hierauf Auswaschen in Wasser.

Die gebräuchlichsten Methoden zur Färbung der Trockenpräparate.

Die Deckglaspräparate vertragen alle möglichen Färbungen.

Nachdem schon früher die einfachsten Färbemethoden mitgetheilt wurden, seien hier noch einige der gebräuchlichsten Verfahren besonders angeführt:

Löffler's Kalimethylenblaufärbung.

30 ccm alkoholischer Methylenblaulösung,
100 ccm wässriger Kalilösung (1 : 10 000).
Färbung 3—5 Minuten, Abspülen, Alkohol, Oel, Balsam.
Entfärben in 0,5—1procentiger Essigsäure.

Ehrlich's Lösung:

5 ccm Anilin (Anilinöl) werden mit
100 ccm Wasser geschüttelt. Der grösste Theil des Anilins löst sich. Man filtrirt durch ein mit Wasser angefeuchtetes Filter (um die ungelösten öligen Tröpfchen des Anilinöls zurückzuhalten) und giebt zu dem Filtrat
11 ccm conc. Fuchsin (oder andere Farbstoff-)lösung.
Färbung 3—5 Minuten, Abspülen, Alkohol, Oel etc.

Ziehl's Lösung:

100 ccm 5procentiger Karbolsäurelösung,
10 ccm Alkohol,
1 gr Fuchsin.
Färbung 3—5 Minuten, Abspülen, Alkohol, Oel etc.

Gram'sche Färbung.

1. Färbung 2—5 Minuten in gesättigter Anilinwassergentianaviolettlösung.[1])
2. Abtropfen der überschüssigen Anilinwassergentianaviolettlösung.

[1]) Statt des Gentianaviolett lässt sich auch Methylviolett in derselben Weise brauchen. Die Farbe wird in letzterem Falle leuchtender, und Niederschläge treten nicht auf. Die Rosaniline, Fuchsin, Methylenblau und Bismarckbraun eignen sich nicht für das Gram'sche Verfahren.

3. Uebertragen auf 1—2 Minuten in Jod-Jodkaliumlösung (1 Jod, 2 Jodkalium, 300 Wasser), worin das Präparat schwarz wird.
4. Entfärben in Alkohol, bis das Präparat blassgrau geworden ist.
5. Einlegen in Kanadabalsam.

Säure unterstützt die Entfärbung durch Alkohol und verhindert zu reichliche Niederschläge. (Gram-Günther'sches Verfahren.) Man benützt Alkohol mit 3procentiger Salpeter- oder Salzsäure oder 10—20 Theile Essigsäure (Ribbert). Das Gram-Günther'sche Verfahren ist jedoch nicht ganz zuverlässig und schädigt leicht die Färbung.

Das Verfahren ist dann folgendes:

Nach 4 Uebertragen in angesäuerten Alkohol 10 Sekunden,
5 reiner Alkohol,
6 Kanadabalsam.

Für Doppelfärbung.

1. Vorfärbung in Methylenblau und Nachfärbung in Safranin.
2. Vorfärbung in Methylviolett, Gentianaviolett, Löffler's Methylenblau und Nachfärbung in Bismarckbraun.
3. Vorfärbung in Fuchsin und Nachfärbung in Methylenblau.
4. Vorfärbung in Fuchsin und Nachfärbung in Malachitgrün.
5. Vorfärbung in Pikro- oder Lithionkarmin und Bakterienfärbung nach dem Gram'schen Verfahren.
6. Vorfärbung in Eosin und Nachfärbung in Methylenblau.

Durch die Nachfärbung in Bismarckbraun leidet übrigens leicht die Bakterienfärbung.

Das Gram'sche Verfahren hat den Vorzug, dass alles Andere, mit Ausnahme der Kerntheilungsfiguren, Körner der Mastzellen, Hornschicht der Epidermis, Hefezellen und Spaltpilze entfärbt wird. Letztere, jedoch nur die Jugendformen, treten mit äusserster Schärfe in schwarzblauer Farbe hervor. Aeltere Spaltpilze bleiben ungefärbt. Die Zellen können übrigens durch Vorfärbung mit Karmin und Nachfärbung mit Bismarckbraun wieder sichtbar gemacht werden. Eine Grundfärbung wird durch Eosin, das man dem zur Entfärbung dienenden Alkohol zusetzen kann, hergestellt.

Ein weiterer Vortheil des Gram'schen Verfahrens ist die elective Färbung gewisser Bakterienarten gegenüber anderen ähnlichen Formen. Dadurch hat das Verfahren einen differentiell diagnostischen Werth.

Die durch Gram's Verfahren entfärbten Spaltpilze können durch Fuchsin wieder hervorgerufen werden (Fuchsin conc. alkoh. Lösung 5 ccm auf 100 Wasser) oder durch Czaplewski's Verfahren (1 gr Fuchsin verrieben mit 5 ccm flüssiger Karbolsäure und Zusatz von 50 ccm Glycerin und 100 Wasser unter fortwährendem Verreiben).

Nach Gram färben sich:

Die pyogenen Staphylokokken, die pyogenen Streptokokken (Erysipel, Phlegmone, Pyämie), der Mikrococcus tetragonus, der Diplococcus

der Pneumonie (A. Fraenkel), der Bacillus des Milzbrands, der Tuberkulose, des Tetanus, der Lepra, der Diphtherie, der Mäusesepticämie und des Schweinerothlaufs, des Rhinoskleroms, des Aktinomyces hominis et bovis.

Nach Gram färben sich nicht (d. h. entfärben sich):

Der Gonokokkus, der Bacillus des Typhus, des Rotzes, der Influenza, der Pest, der hämorrhagischen Septicämie (Hühnercholera, Kaninchensepticämie, Schweineseuche, Rinder-, Wildseuche etc.), der Cholera asiatica, der Pneumoniebacillus (Friedländer), die Spirochaete des Recurrensfiebers, Bacterium Coli commune.

Färbung der Sporen.

Bei den verschiedenen erwähnten Färbungsmethoden nehmen die Sporen in der Regel keine Färbung an; im gefärbten Präparat erscheinen sie meist als ungefärbte kugelige oder ellipsoide Körper von eigenthümlichem Glanz. (Bei offener Abbe'scher Beleuchtung geht der Glanz der Sporen verloren; um ihn zu sehen, muss man eine enge Blendung anwenden.) Nur zuweilen ist der peripherische Saum der Sporen leicht gefärbt.

Sporen werden durch längeres Erhitzen und durch Färben bei höherer Temperatur für die Aufnahme des Farbstoffes empfänglich. Ihre Färbung gelingt nur gut an Deckglas-Trockenpräparaten. Deckplättchen werden statt 3mal 6—10mal durch die Flamme gezogen oder $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde im Trockenschrank bei 180—200 ^{0} belassen. Wir färben dann in heissem, gesättigtem Anilinwasserfuchsin oder in Karbolfuchsin (Ziehl'scher Lösung) bei 80—90 ^{0} 10—40 Minuten (Neisser). Die Spore hält den Farbstoff fester als der übrige Theil des Spaltpilzes; sie bleibt gefärbt, während letzterer durch salzsauren Alkohol entfärbt wird. Färben wir nun mit einer Gegenfarbe nach, mit Blau (alkoholisches Methylenblau), so erhalten wir durch diese auch den Bakterienleib gefärbt, in der als leuchtend rothe Körner die Sporen mit aller Deutlichkeit hervortreten.

Ein bequemes Verfahren für Sporenfärbung theilt Hauser[1]) mit.

Auf 3—10mal durch die Gasflamme gezogene Deckglaspräparate kommen so viel Tropfen einer mässig concentrirten, wässrigen Fuchsinlösung, dass das Deckglas ganz damit bedeckt ist. Darauf wird es 40 bis 50mal durch die Flamme geführt, wobei man stets so lange in letzterer verweilt, bis Dampfbildung erfolgt. Zur Entfärbung taucht man die Präparate für einige Sekunden in 25procentige Schwefelsäure. wäscht aus und färbt in schwacher, wässriger Methylenblaulösung nach. Das Verfahren beansprucht kürzere Zeit (15 Minuten). Die Sporenfärbung wird aber bei längerer Erwärmung schöner.

[1]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. V, S. 97. 1888.

Sporenfärbung nach Möller.

Möller[1]) sucht durch Macerationsmittel die Sporenmembran für Farbstoffe durchgängiger zu machen. Die Vorbehandlung der Präparate für die Sporenfärbung mit chemischen Mitteln ist vorsichtig auszuführen, wenn die Sporenfärbung nicht leiden soll.

1. Fixiren des Deckglases in der Flamme durch 3maliges Durchziehen oder Eintauchen in absoluten Alkohol (2 Minuten).
2. Eintauchen in Chloroform 2 Minuten.
3. Eintauchen $1^1/_2$—2 Minuten in 5procentige Chromsäure.
4. Abspülen mit Wasser.
5. Färben durch Beträpfeln mit Karbolfuchsin, Erwärmen in der Flamme unter einmaligem Aufkochen 1 Minute.
6. Entfärben: Abgiessen des Karbolfuchsins und Eintauchen des Deckgläschens in 5procentige Schwefelsäure. Gründliches Auswaschen in Wasser.
7. 30 Sekunden Färbung in wässrigem Methylenblau oder Malachitgrün und Abspülen in Wasser, Trocknen, Kanada.

Die Sporen erscheinen dunkelroth im blauen oder grünen Bakterienkörper.

Im Falle die Sporen eine Maceration von 5 Minuten nicht ertragen, ist statt der Chromsäure (5procentig) Chlorzinkjod (gesättigte Lösung) mit Vortheil zu gebrauchen.

Auch Löffler's Verfahren zur Geisselfärbung eignet sich für Darstellung der Sporen.

Die von Ernst,[2]) Neisser und Babes[3]) gefundenen metachromatischen Körperchen haben, wie Bunge[4]) gezeigt hat, mit der Sporenbildung nichts zu thun. Sie kommen auch bei Spaltpilzen vor, an denen bis jetzt keine Sporenbildung nachgewiesen wurde.

Ernst hat durch alkalische Löffler'sche Methylenblaulösung bei höherer Temperatur in den Xerosisbacillen tiefblau gefärbte Körner (sporogene Körner?) nachgewiesen, während die übrige Substanz der Bacillen in schwachen Fuchsin- oder Bismarckbraunlösungen roth resp. gelb gefärbt wurde. Dasselbe glückte bei verschiedenen anderen Bakterien auch mit Hämatoxylin (Delafield) und Kernschwarz. Diese Körner färben sich mit Methylenblau — Bismarckbraun schwarzblau (Mischfärbung), die fertigen endogenen Sporen hellblau (Doppelfärbung). Auch durch erwärmtes Karbolfuchsin, kurze Abspülung in 1procentiger Schwefelsäure und Nachfärbung mit wässriger Methylenblaulösung (Neisser) oder noch

[1]) Möller, H., Ueber eine neue Methode der Sporenfärbung. Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. X. 1893. No. 16, p. 273.

[2]) Paul Ernst, Ueber den Xerosis-Bacillus, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 4, 1888. Ueber Keim- und Sporenbildung in Bakterien. Daselbst Bd. 5, 1889.

[3]) Babes, Ueber isolirt färbbare Antheile von Bakterien. Daselbst Bd. V, 1889.

[4]) Fortsehritte der Medicin Bd. 13.

besser mit basischem Blau in der Wärme und Gegenfärbung mit frischer Bismarckbraunlösung gelingt der Nachweis jener Körperchen.

Babes färbte morphologisch begrenzte Formbestandtheile verschiedener Organismen mit dem Löffler'schen Blau, welches möglichst concentrirt auf das mit angetrockneten Bakterien versehene Deckgläschen getropft wurde, etwa $^1/_4$ Stunde bis zur beginnenden Austrocknung daselbst blieb und darauf abgewaschen wurde. Er erzielte so eine scharfe Contrastfärbung schon durch Anwendung einer einzigen Farbe, Kügelchen in den Bacillen schwarzroth oder schwarzviolett und die Bacillen blau.

Geisselfärbung.

Erste Bedingung ist die Benutzung eines sorgfältig mit Alkohol, Säure und Alkali gereinigten Deckglases und die Aufschwemmung junger Kulturen in Brunnenwasser. Ueberhitzung der Präparate beim Fixiren wird vermieden dadurch, dass das Deckglas nicht mit der Pincette, sondern mit dem Daumen und Zeigefinger gefasst wird. Dann Färbung mit

Löffler's Beize (Fuchsintinte).

1. Zu einer wässrigen Tanninlösung[1]) (20 : 80) 10 ccm werden 5 ccm kalt gesättigter Ferrosulfatlösung tropfenweise zugesetzt, bis die Flüssigkeit schwarzviolett erscheint. Dann wird 1 ccm wässrige oder alkoholische Fuchsinlösung zugegeben.

2. Das reichlich mit obiger Beize bedeckte Deckglas wird über der Flamme bis zur Dampfbildung $^1/_2$—1 Minute erwärmt.

3. Kräftiges Abspülen in destillirtem Wasser und dann in Alkohol absol.

4. Auftropfen einer gesättigten Anilinwasser-Fuchsinlösung, die durch tropfenweisen Zusatz von NaOH-Lösung (1 pro Mille) neutralisirt ist und in Schwebefällung sich befindet. Die NaOH-Lösung wird so lange zugesetzt, bis die durchsichtige Flüssigkeit beginnt undurchsichtig zu werden.

5. Erwärmen des Deckglases 1 Minute, bis Dampfbildung erfolgt.

6. Abspülen in Wasser etc.

Löffler's Beize in der obengenannten Zusammensetzung ist jedoch nicht für alle Bakterien zur Geisselfärbung geeignet. Bei manchen Bakterien (Säurebildnern) unterstützt ein Zusatz von Alkali, bei anderen (Alkalibildnern) ein Zusatz von Säure die Färbung. Man versetzt zu dem Zweck die Beize tropfenweise mit 1procentiger Natronlösung oder 1procentiger Schwefelsäure, bis man durch Versuche das Optimum der Beizbarkeit gefunden hat.

Bunge[2]) hat das Löffler'sche Verfahren dadurch modificirt, dass er durch Wasserstoffsuperoxyd die Oxydation der Beize beschleunigte.

Die Deckgläser werden sorgfältig mit Säure, Alkali und Alkohol gereinigt und leicht über der Flamme erhitzt.

---

[1]) Tanninpulver wird in heisses Wasser geschüttelt, hierauf lässt man erkalten.

[2]) Fortschritte der Medicin, Bd. 12.

Von einer Bakterienaufschwemmung in Leitungswasser (zweite Verdünnung in einem Wassertropfen) wird mit einer Platinnadel etwas auf das Deckglas gestrichen. Nachdem der Anstrich trocken, wird das Präparat 1mal durch die Flamme gezogen. Beize: concentrirte wässrige Tanninlösung (2 : 80) 3 Theile, verdünnte Eisenchloridlösung (1 : 20 Wasser) 1 Theil.

Zu 10 Theilen der Mischung kommt 1 ccm wässrige Fuchsinlösung. Zur Oxydation bleibt die Mischung (3 Tage bis 3 Wochen) in einem gut verschlossenen Glase stehen.

Der Beize wird tropfenweise Wasserstoffsuperoxyd zugefügt, bis dieselbe rothbraun wird. Sie wird dann sofort benützt, nach gutem Umschütteln auf das Präparat filtrirt, wo sie 1 Minute stehen bleibt. Dann Abspülen mit Leitungswasser, Trocknen zwischen Fliesspapier. Färbung in frisch bereiteter Karbolgentiana aus 5procentiger Karbolsäure und concentrirter alkoholischer Gentianaviolettlösung.

Geisselfärbung nach v. Ermengem.

Zur Färbung dient Silbersalpeter.

Das sorgfältig gereinigte Deckglas mit dem angetrockneten Präparat wird 3mal durch die Flamme gezogen.

Beize: Tanninlösung 10—25procentig (event. mit 4—5 Tropfen), Eisessig auf 100 ccm 2 Theile, 2procentige Osmiumsäurelösung 1 Theil. Ein Tropfen der Mischung bleibt entweder 30 Minuten in der Kälte oder 5 Minuten bei 50—60° auf dem Präparat stehen. Nach sorgfältiger Abspülung in Wasser und Alkohol wird das Präparat in 0.5—0,25procentige Lösung von Silbersalpeter einige Sekunden eingetaucht und ohne abzuspülen in folgende Mischung gebracht:

Acid gallic.	5,0
Acid tannic.	3,0
Kali acet. fus. . . .	10,0
Aq. destill.	350,0

Nach einigen Sekunden kommt unter fortwährender Bewegung der Flüssigkeit das Präparat in die obige Silberlösung zurück, bis diese sich zu schwärzen beginnt. Abspülen in vielem Wasser, Trocknen zwischen Filtrirpapier. Die Geisseln erscheinen schwarzbraun.

Die Färbung kann durch ein Goldbad, Uran, Quecksilber modificirt werden.

Trenkmann's Geisselfärbung.[1])

Ein kleiner Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit wird mit destillirtem Wasser auf dem Objektträger ausgebreitet.

---

[1]) Trenkmann, Die Färbung der Geisseln von Bacillen und Spirillen. Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. VI. 1889. No. 16, 17, p. 433. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. 1890.

1. Sobald das Präparat lufttrocken ist, kommt es (ohne Erwärmung) auf 2—12 Stunden in eine Lösung von:
   Tannin . . . . . 1 % mit
   Salzsäure . . . . . 1½ %.
   Hierauf wird das Präparat gefärbt in
   Karbolfuchsin . . . . . 1—4 Stunden.
   Dann Auswaschen und Uebertragen in Wasser.
2. Eine zweite Methode ist Uebertragung des Präparates in eine Mischung aus:
   Gesättigter Catechugerbsäure . . . . . 4 Theile und
   Gesättigter wässriger Karbolsäure . . . . . 1 Theil.
   Färbung wie oben.
3. Drittes Verfahren:
   Concentrirte Lösung von Extractum campechianum.
   Salzsäure oder Gallussäure ½ % oder Karbolsäure . . . 1—2 %.
   Färbung wie oben.

Nach Dowdeswell[1]) gelingt die Färbung der Geisseln bei den Cholerabacillen schon mit wässriger Gentianaviolettlösung, doch ist in diesem Fall die Einbettung in Kaliacetat derjenigen in Kanadabalsam vorzuziehen.

An lebenden Spaltpilzen (Vibrio Metschnikoff[2]), Cholerabacillus und Bacillus (Finkler-Prior) lassen sich die Geisseln färben, man darf nur 1—3tägigen Bouillonkulturen dieser Organismen auf dem Objektträger 1 Tropfen mit Wasser verdünnter Ziehl'scher Lösung (S. 205) zusetzen.

Färbung der Bakterien in Schnitten.

Schnitttrockenpräparate. Der Vorzug der Methode besteht in der Umgehung des Alkohols, wodurch eine weitere Entfärbung der Spaltpilze vermieden wird. Ausserdem wird der Schnitt durch Antrocknen glasig aufgehellt und dünner, was die Untersuchung erleichtert. Die gefärbten Schnitte werden in angesäuertem Wasser ausgezogen (bei Färbung mit Karbolmethylenblau einige Augenblicke in schwach mit kohlensaurem Lithion alkalisch gemachtem Wasser abgeschwenkt) und dann in reines Wasser zur vollkommenen Ausspülung übertragen. Der mit Deckgläschen aufgefangene Schnitt wird glatt ausgebreitet, das überflüssige Wasser vom Rande mit Fliesspapier aufgenommen, die Unterfläche des Deckgläschens abgetrocknet und das Deckplättchen auf Fliesspapier gelegt.

---

[1]) Dowdeswell, S. F., Note sur la flagella du microbe du choléra. Ann. du Microgr. T. II. 1890. No. 8, p. 377. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie I, 376. 7, 1890.

[2]) Société du biologic. 18. VI. 92.

Man fixirt dasselbe an einer Ecke und richtet auf dasselbe einen senkrechten Luftstrom aus dem Ballongebläse erst auf die Mitte, dann gegen die Ränder, bis der Schnitt fest aufliegt. Sobald er grösstentheils von Wasser befreit ist, wird er auf einer Glasplatte über einer Spiritusflamme 5—8 Minuten leicht erwärmt bei 38—40° C. Darauf übergiesst man ihn wiederholt mit ätherischem Oel und überträgt ihn in Xylol und dann in Kanadabalsam.

Färbung der Schnittpräparate.

Die Schnitte werden aus Alkohol in die Farblösung übertragen und dann wie andere gefärbte Präparate in Balsam eingeschlossen oder, nachdem sie am Deckglas oder Objektträger angetroeknet sind, wie Troekenpräparate (siehe diese) behandelt.[1])

Obgleich die Färbungsmethoden bei Schnitten im Wesentlichen dieselben wie bei Deckglaspräparaten sind, verdienen doch gewisse Modifikationen Beachtung.

1. Die bei den Schnittpräparaten für den Einschluss nöthige Entwässerung entzieht leicht zu viel Farbstoff den Organismen. Dies einigermassen zu vermeiden, werden die Schnitte länger oder in der Wärme gefärbt und Farbstoffe gewählt, welehe weniger leicht durch Alkohol ausgezogen werden (Gentianaviolett).

Die Erwärmung beschleunigt die Färbung, ist aber bei leichter färbbaren Organismen nicht nothwendig. Sie geschieht im Brutschrank oder über der Spiritusflamme, im letzteren Falle so lange, bis Dampfentwickelung beginnt (Celloidinpräparate schrumpfen beim Erwärmen).

2. Von grossem Vortheil ist, um auch das Detail des Gewebes kennen zu lernen, welches durch die Enttärbung undeutlich wird, durch eine weitere Färbung die Gewebsstruktur wieder hervortreten zu lassen. Wir färben dann das Gewebe mit Karmin, Pikrokarmin, Lithionkarmin vor oder lassen nach der Bacillenfärbung eine andere Färbung[2]) (Bismarckbraun, Safranin anilinöl) folgen. (Siehe Doppelfärbung S. 193 und 197.)

3. Um die theilweise Entfärbung zu vermeiden, welche mit der Entwässerung durch Alkohol verbunden ist, fügt man dem zum Entwässern dienenden Alkohol etwas von der Farbe zu, worin das Präparat gefärbt wurde. Bei starker Färbung ist diese Rücksicht überflüssig, vielleicht sogar zum Nachtheil. (Siehe Entfärben S. 192.)

4. Zur Aufhellung wird am besten Origanum-, Cedern- oder auch Bergamottöl benutzt. Nelkenöl zieht die Anilinfarben zu sehr aus. Am geeignetsten ist Xylol, nur sehrumpfen bei Anwendung des letzteren leicht die Präparate.

---

[1]) Durch das Antrocknen am Deckglas falten sich leicht die Schnitte, und manches Detail des Gewebes wird undeutlich.

[2]) Eosin zieht die Bakterienfärbung leicht aus. Auch Karmin und Pikrokarmin sind nicht ganz indifferent. Siehe Doppelfärbung.

Färbung von Schnittpräparaten der Gelatine- und Agarkulturen.

Man sticht entweder die Gelatine- oder Agarkultur aus oder löst sie durch leichtes Erwärmen des Reagenzglases oder der Kulturschale oder durch Zerschlagen des Glases. Hierauf wird der Agar oder die Gelatine in 85—95procentigem Spiritus oder Formol gehärtet, auf Holz geklebt und geschnitten.

Neisser empfiehlt, die ausgestochenen Stücke je nach ihrer Grösse 1—8 Tage in einer Lösung von doppeltchromsaurem Kali (1 %) dem Lichte auszusetzen. darauf in Wasser gründlich auszuwaschen und in 70- dann in 95procentigem Alkohol zu härten.

Färbung in den gebräuchlichen Lösungen der Anilinfarben. Agar und Gelatine geben in Alkohol wie in Anilinöl den Farbstoff ab.

Die gebräuchlichsten Methoden zur Färbung von Bakterien in Schnitten.

Kalimethylenblau. Eine Mischung des Farbstoffs mit Kali findet mit Erfolg vielfache Anwendung auf alle möglichen Bakterien.

Die starke oder Löffler'sche Lösung besteht aus:

Concentrirter, alkoholischer Lösung von Methylenblau 30 ccm,
Kalilauge 1 : 10000 (0,01 %) . . . . . 100 „

1. Färbung 3—5 Minuten.
2. Entfärben 10—30 Sekunden in 0,5—1procentiger Essigsäure.[1])
3. Entwässern in Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Färbung in Gentianaviolett.

1. Färbung in 2procentiger wässriger oder ebenso starker alkoholischer Lösung bis zur dunkelvioletten Färbung der Schnitte.
2. Auswaschen in absolutem Alkohol bis zur hellvioletten Färbung.
3. Xylol, Kanadabalsam.

Die Kerne werden hellviolett, die Bacillen dunkelviolett.

Für vollständigere Differenzirung werden die Schnitte vor der Alkoholbehandlung in 2—5procentiger Essigsäure 10—20 Sekunden ausgewaschen.

Gentianaviolett überfärbt leicht und eignet sich für Organismen, welche andere Farbstoffe leicht an den Alkohol abgeben (Typhusbacillen).

Methylviolett.

Wird in derselben Weise wie Gentianaviolett angewandt. Es färbt weniger intensiv und überfärbt nicht leicht.

---

[1]) Event. zur stärkeren Entfärbung Zugabe von Tropäolin, bis die Essigsäure eine hellgelbe Farbe hat.

Anilinwasser und Anilinfarbstoff. Gentianaviolettanilinwasser. Ehrlich's Mischung.

Anilinöl	5 ccm
Aq. destill.	100 ccm

werden geschüttelt und durch ein feuchtes Filter geschickt. Das Filtrat muss klar sein ohne Oeltropfen und darf sich beim Schütteln nicht trüben. Zusatz von Alkohol erhöht nicht wesentlich die Haltbarkeit der Mischung, darum wird sie am besten stets frisch in folgender Weise hergestellt. Zu ca. 2 ccm Anilinöl im Reagenzglas wird destillirtes Wasser gegossen, einige Minuten geschüttelt, filtrirt und zu dem klaren Filtrat von einer alkoholischen concentrirten Gentianaviolett- oder sonstigen Farblösung nur soviel zugegossen, bis sie mit Farbstoff gesättigt ist. Dieser Zeitpunkt ist eingetreten, wenn an der Oberfläche der Flüssigkeit sich ein metallisch glänzendes Häutchen bildet. Für gewöhnlich kann man auch mit dünneren Lösungen und dann etwas länger färben. Siehe Weigert's Bakterienfärbung S. 207.

Färben 1—2 Minuten, Entfärben, Alkohol, Oel, Balsam.

Karbolfuchsin, Ziehl'sche Lösung.

Destillirtes Wasser	100	gr
Acid. carbol. krystall.	5	„
Alkohol	10	„
Fuchsin	1	„ oder

5procentige wässrige Karbolsäurelösung wird bis zur Sättigung mit einer concentrirten, alkoholischen Fuchsinlösung versetzt.[1])

Färben 1—2 Minuten, Abspülen, Alkohol, Oel, Balsam.

Fuchsinfärbung nach Pfeiffer.

1. Alkoholhärtung.
2. Färben $^1/_2$ Stunde in Karbolfuchsinlösung. (1 : 20 Aq. destill.)
3. Auswaschen in einer Schale Aq. dest. mit 1 Tropfen Eisessig bis zur grauvioletten Färbung des Schnittes.
4. Alkohol, Oel etc.

Kühne's Karbolmethylenblau.

Das Verfahren ist ein relativ universelles, da es die meisten und selbst schwer nachweisbaren Organismen färbt.[2])

Methylenblau	1,5
Absol. Alkohol	10,0
5procentiges Karbolwasser	100,0 Theile.

[1]) Die Sättigung erkennt man daran, dass an der Oberfläche der Flüssigkeit ein metallisch glänzendes Häutchen erscheint.

[2]) Auch Tuberkelbacillen, die Organismen der Hühnercholera und des Typhus, des Rotzes, der Lepra- und der Mäusesepticämie werden (Leprabacillen in 2 Stunden) gefärbt, wenn auch von den beiden letztgenannten nicht alle.

Bei nicht zu häufigem Gebrauch empfiehlt es sich, nur die Hälfte davon herzustellen, weil die Färbekraft der Lösung mit der Zeit abnehmen könnte.

1. Färben der Schnitte $^1/_2$—2 Stunden.
2. Schnelles Abspülen in Wasser.
3. Ausziehen in angesäuertem Wasser.[1]) 2 Tropfen Salzsäure : 100 Wasser, bis die Schnitte blassblau geworden sind.
4. Abspülen in einer Lösung von 6—8 Tropfen einer concentrirten, wässrigen Lösung von kohlensaurem Lithion auf 10,0 Wasser.
5. Uebertragung in reines Wasser 3—5 Minuten.
6. Eintauchen in Alkohol absol. (mit etwas Methylenblau).
7. Uebertragen in Methylenblau-Anilinöl, einige Minuten.[2])
8. Abspülen in reinem Anilinöl.
9. Aetherisches Oel (Thymen Tereben) 2 Minuten.
10. Xylol.
11. Balsam.

Das Gram'sche Verfahren[3]) (s. S. 196).

Für Schnitte nach Alkoholbehandlung Oel etc.

Nach Gram dürfen die nach seiner Methode zu färbenden Schnitte nur aus dem Alkohol (nicht aus verdünntem Alkohol oder Wasser) in die Ehrlich'sche Farbflüssigkeit, Gentianaviolett in Anilinwasser, übertragen werden. Ich habe jedoch gefunden, dass es ziemlich gleichgültig ist, ob die Schnitte aus Alkohol oder aus Wasser in die Farblösung kommen.

Zuweilen jedoch, besonders an älteren Alkoholpräparaten, gelingt es nicht, sofort eine vollständige Entfärbung der Kerne und der Grundsubstanz zu erhalten. In diesen Fällen führt oft eine wenige Sekunden lange Entfärbung der Schnitte mit schwach angesäuertem Alkohol (1 % Salzsäure) zum Ziele; nur muss man sich hüten, dass nicht auch die Schizomyceten gleichzeitig mit entfärbt werden, und die Schnitte nach der Säureeinwirkung sofort in ganz reinem Alkohol gut auswaschen. Siehe Verfahren von Gram-Günther, Seite 197.

Das Gram'sche Verfahren mit Doppelfärbung.

a) Vorfärbung mit Karmin.

Die Schnitte kommen aus dem Alkohol

1. in Wasser auf mehrere Minuten, dann

---

[1]) Um eine scharfe Kernfärbung zu erzielen, kann statt mit angesäuertem Wasser auch mit einer wässrigen sauren Lösung basischen Indulins (Chlorhydrinblau) entfärbt werden. In letzterem Fall scheint das Methylenblau sogar stärker in den Bacillen fixirt zu werden.

[2]) Eine Messerspitze Methylenblau wird ohne zu starken Druck mit 10,0 Theilen gereinigten Anilinöls verrieben. Bevor alle Farbe gelöst ist, wird das Ganze unfiltrirt in ein Fläschchen gegossen. Nach einiger Zeit wird das Oel vollkommen klar. Einige Tropfen davon werden in einem Schälchen mit reinem Anilinöl bis zur gewünschten Concentration versetzt.

[3]) Gram, Fortschritte der Medicin. 1884. S. 185.

2. in Pikrokarmin [1]) 24 Stunden, oder Lithionkarmin 10—20 Minuten.
3. Auswaschen in mehrmals erneuertem Wasser oder bei Pikrokarmin, Salzsäure-Alkohol (1 auf 100).
4. Alkohol.
5. Färbung nach Gram oder Gram-Günther, S. 197.

b) Nachfärbung mit Bismarckbraun oder Karmin.

Der Schnitt wird nach Alkoholbehandlung einen Augenblick in wässrige Bismarcklösung getaucht, in Alkohol wieder entwässert, und nachdem er Xylol passirt, in Balsam eingeschlossen. Durch die Bismarckfärbung leidet aber die Bakterienfärbung häufig, und Erysipelkokken werden leicht vollständig entfärbt. Aus diesem Grunde ist Vorfärbung mit Pikrokarminlösung empfehlenswerther.

Die Spaltpilze bleiben dunkelblau, die Kerne werden roth (Karminfärbung) oder gelb bis braun (Bismarckfärbung).

Die doppelt gefärbten Gram'schen Präparate sind nicht sehr haltbar.

Weigert's Bakterienfärbung.[2])

1. Alkoholhärtung.
2. Färben in gesättigter Anilinwassergentiana- oder Methylviolettlösung 5—15 Minuten.
3. Abspülen in Wasser oder Kochsalzlösung von 0,6 %.
4. Vorsichtiges Abtrocknen des Schnittes mit Fliesspapier auf dem Spatel oder Objektträger.
5. Betropfen des Schnittes auf dem Objektträger oder Spatel mit Jodjodkaliumlösung 1—2 Minuten.
6. Abtrocknen mit Fliesspapier.
7. Entfärben durch Betropfen des Schnittes von 2—3mal erneuertem Anilinöl, bis keine Farbe mehr abgegeben wird. Der Schnitt ist dann durchsichtig.
8. Entfernen des Anilinöls mit Xylol.
9. Kanadabalsam.

Für Darstellung des Gewebes Vorfärbung mit Karmin oder Lithionkarmin 3 Minuten. Uebertragen der Schnitte in salzsauren Alkohol, Auswaschen in Wasser, Uebertragen in Anilinwassergentianaviolett. Da die Weigert'sche Färbung keine Entwässerung in Alkohol gestattet, muss die Färbung in Lithion-Karmin vorausgehen.

---

[1]) Pikrokarmin von Friedländer. Zu 1 Karmin, 1 Ammoniak, 50 Wasser wird soviel concentrirte wässrige Pikrinsäurelösung gegeben, bis der entstehende Niederschlag (Karmin) beim Umrühren nicht mehr gelöst wird. Eine Spur Ammoniak löst den Niederschlag wieder.

[2]) Fortschritte der Medicin. 1887.

Spaltpilze und Fibrin färben sich tiefblau und manche Organismen besser als nach Gram's Verfahren. Auch Tuberkel- und Leprabacillen färben sich in wenigen Minuten.

Kühne's Modifikation der Gram'schen Methode.[1])

Bei der gewöhnlichen Gram'schen Methode sind die Farbstoffniederschläge lästig, und die Zeit für Abspülung der Schnitte in Alkohol ist schwer zu bemessen. Kühne hat die Missstände durch ein modificirtes Verfahren beseitigt.

1. Färbung der Schnitte in einer Lösung von Violett- oder Viktoriablau,[2]) welche mit der Hälfte einer 1procentigen wässrigen Lösung von kohlensaurem Ammoniak versetzt wurde, 5 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Uebertragung in Jod-Jodkaliumlösung,[3]) 2—3 Minuten.
4. Abspülen in Wasser.
5. Ausziehen des Farbstoffes in Fluorescëin-Alkohol.
6. Auswaschen des Fluorescëin-Alkohols in reinem Alkohol.
7. Aetherisches Oel. Bei Behandlung mit Anilinöl, ätherisches Oel und Xylol.
8. Balsam.

Eine andere Modifikation des Gram'schen Verfahrens ist folgende nach Kühne:

1. Die entwässerten, ungefärbten oder mit Karmin vorgefärbten Schnitte kommen in eine mit Salzsäure[4]) versetzte, concentrirte, wässrige Violettlösung, 10 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Jod-Jodkaliumlösung, 2—3 Minuten.
4. Abspülen in Wasser.
5. Absoluter Alkohol, einige Sekunden.
6. Reines Anilinöl zur Ausziehung, Differenzirung und Entwässerung.
7. Aetherisches Oel, Xylol.
8. Balsam.

Färbung der wichtigsten pathogenen Spaltpilze.

Staphylococcus und Streptococcus.

Staphylococcus pyogenes aureus, citreus, flavus und albus, die meist in unregelmässigen Haufen und traubenförmigen Ballen vor-

---

[1]) Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien. Wiesbaden, 1888.

[2]) 1,0 gr Victoriablau in 50,0 Alkohol von 50 % gelöst.

[3])
Jod.	2,0.
Jodkalium . . .	4,0.
Wasser	100,0.

Zum jedesmaligen Gebrauch wird soviel zu einem Schälchen Wasser gesetzt, bis dieses eine Madeirafarbe angenommen hat.

[4]) 1 Tropfen auf 50,0.

kommen, ebenso wie die Arten des Streptococcus, Streptococcus pyogenes und Streptococcus erysipelatis, färben sich in den gewöhnlichen wässrigen Lösungen der Anilinfarben, Löffler's Methylenblau und nach Gram. Letzteres Verfahren ist, da es die Zellen vollständig entfärbt, für den Nachweis der genannten Spaltpilze besonders vortheilhaft und ist wegen der differentiellen Diagnose anderen Organismen gegenüber nicht zu unterlassen.

Für Schnittpräparate dürfte aus den bereits erwähnten Gründen die Gram'sche Färbung mit Vorfärbung durch Pikrokarmin oder Nachfärbung durch wässriges Bismarckbraun oder die Weigert'sche Färbung unter Vorfärbung durch Lithionkarmin den übrigen Färbungen vorzuziehen sein.

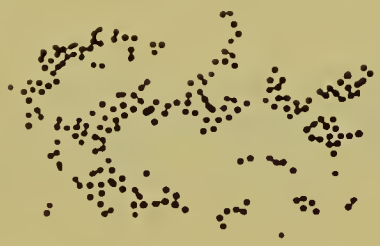

Fig. 59.
Staphylokokkus pyogenes aureus. Agarcultur, Deckglastrockenpräparat. Färbung nach Gram. Vergrösserung 1000 : 1.

Fig. 60.
Streptokokkus pyogenes aus phlegmonösem Eiter. Deckglastrockenpräparat. Färbung mit Methylviolett. Vergrösserung 1000 : 1.

Die obigen Organismen finden sich in Abscessen, bei Phlegmonen, Erysipel, Osteomyelitis, Endokarditis, Peritonitis, Perimetritis, Pleuritis, manchen Pneumonieen, eitriger Meningitis.

In einigen Fällen erysipelatöser Entzündung wurden auch Staphylococcen gefunden.

2. Micrococcus meningitidis Syn. Diplococcus intracellularis.

Im Eiter der weichen Hirnhaut bei Meningitis epidem. und im Nasenschleim (auch bei Gesunden). Er ist vom Gonococcus nur durch die Cultur und sein Verhalten gegen Thiere zu unterscheiden.

Färbt sich mit Methylenblau am besten an Deckglaspräparaten, weniger gut in Schnitten. Strich und Culturpräparate färben sich auch nach Gram, Schnitte nicht.

3. Micrococcus vesicae.

Von Heim bei Cystitis gefunden, sowohl in Diplokokken- wie Tetradenform. Aehnelt sehr dem Gonococcus, findet sich jedoch nicht in Leukocyten.

Fig. 61.
Micrococcus tetragonus ohne Kapsel. Lungencaverne. Deckglastrockenpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.

4. Micrococcus tetragonus

ein grosser, tetradenförmig angeordneter, von breiter Kapsel umgebener Coccus, färbt sich in Gram, die Kapsel bleibt ungefärbt. Fundort: tuberkulöse Cavernen und Abscesse, Speichel. Pathogen für weisse Mäuse und Meerschweinchen.

5. Der Gonococcus.

Die runden Zellen finden sich meist in Zweitheilung. Die getrennten Hälften sind noch in Verbindung, während die neue Theilung senkrecht auf die erste Theilungsebene beginnt. So entstehen flächenhafte, aus vier Kokkenexemplaren bestehende Haufen. Die Tetradenform der Haufen ist jedoch nicht immer eine regelmässige.

Um den Gonococcus in Schnittpräparaten nachzuweisen, empfiehlt Touton Färbung mit Karbolfuchsin und dann Auswaschen in Alkohol.

Methylviolett, Methylenblau, Gentiana, Thionin, Fuchsin, Vesuvin oder Bismarckbraun färben die Kokken. Doppelfärbung durch zeitlich

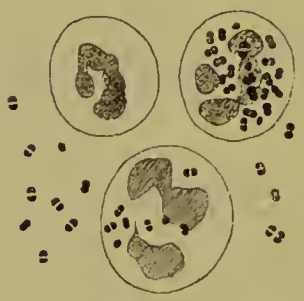

Fig. 62.
Gonococcus, Trippereiter, theils frei, theils in Leukocyten. Deckglaspräparat, Fuchsin. 1000 : 1.

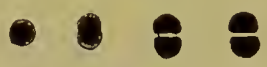

Fig. 63.
Nach dem Mikroskop vergrösserte Gonokokken.

getrennte Färbung in Eosin und Methylenblau oder Methylenblau und Safranin oder gleichzeitige Färbung. S. S. 111. Die Kokken erscheinen blau, die Zellen roth. Die Entfärbung durch Gram dient als Unterscheidungsmerkmal gegenüber anderen ähnlichen Organismen. Durch Bismarckbraun oder sehr schwache Safraninlösung werden nach Gramscher Färbung die Gonokokken sichtbar.

Die Gonokokken liegen grossentheils in Eiterkörpern.

Der Fundort ist das Sekret der Harnröhren- und Genitalschleimhaut, des Cervix und der Conjunctiva, in deren Epithel sie gleichfalls vorkommen. Auf Schleimhäuten mit verhornendem Epithel gedeihen die Gonokokken nicht.

In den Secundäraffectionen bei Tripper (Bubonen, Hoden- und Prostataabscessen, Gonitis, Endocarditis) sind ebenfalls, z. Th. in Gesell-

schaft von Eitermikroben (Staphylokokken.) Gonokokken gefunden worden. Auch die Uebertragung des Gonococcus auf die Serosa des Peritoneums ist geglückt.

Doppelfärbung.

Karbol-Mothylenblau, Safranin (Schütz.[1])

1. Färben des Deckglaspräparats in einer kalten, filtrirten, gesättigten Lösung von Mothylenblau in 5procentigem Karbolwasser 5—10 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Momentanes Eintauchen in essigsaures Wasser. Acid. acetic. dil. 5 Tropfen, Aq. destill. 20 ccm.
4. Gründliches Auswaschen in Wasser.

Die Gonokokken erscheinen blau, und bei Nachfärbung in sehr verdünnter wässriger Safraninlösung die Eiterzellen und deren Kerne lachsfarben.

Eosin-Methylenblau.

1. Färben in alkoholischer Eosinlösung 2—3 Minuten.
2. Absaugen des überschüssigen Eosins mit Fliesspapier.
3. Färben in alkoholischer Methylenblaulösung $^1/_2$ Minute.
4. Waschen in Wasser.
5. Trocknen, Kanadabalsam.

Die Kokken erscheinen blau, die Zellen roth.

Karbolfuchsin-Methylenblaugemisch (Pick & Jacobson.[2]) bei acuter Gonorrhoe.

Färben 8—10 Secunden in einer Lösung aus 20 ccm Aq. dest., 15 Tropfen Karbolfuchsin (Ziehl) 8 Tropf. conc. alkohol. Methylenblau, Abspülen.

Die Gonokokken erscheinen schwarzblau, andere Bacterien und Zellkerne hellblau, Plasma, Schleim und Epithelien rosa.

Thionin-Fuchsin (Lanz). (Deutsche med. Wochenschr. 1898, No. 40.)

6. Sarcine.

Wir kennen davon mehrere Arten, eine gelbe, weisse und rothe Sarcine.

Im Magen, Sputum, Lungencavernen, Mundhöhle, Harn und ausserhalb des menschlichen Körpers.

In Jodchlorzinklösung färben sich die Zellhüllen roth violett. Anilinfarbstoffe färben schon in dünnen Lösungen, überfärben aber leicht mit Ausnahme verdünnter Bismarcklösung.

7. Diplococcus lanceolatus sive Streptococcus lanceolatus. Diplococcus pneumoniae (A. Fränkel-Weichselbaum)

ist ein länglichrunder, lanzettförmiger Diplococcus, der auch 5—6gliedrige Ketten bildet. Eine helle Schleimkapsel umgiebt ihn, Eigenbewegung fehlt. Durch wässrige Anilinfarben wird er ohne Schwierigkeit gefärbt,

[1]) Münchener med. Wochenschrift 1889 No. 4.
[2]) Die Farblösung ist gegen Licht empfindlich.

während die Kapsel ungefärbt bleibt. Schöne Färbung giebt auch Karbolfuchsin: (Fuchsin 1; Karbolwasser 100). Bei mehrstündigem Verweilen in der Lösung erscheint der Coccus intensivroth, die Kapsel blassroth (v. Kahlden). Auch der Doppelfärbung ist er zugänglich und auch dem Gram'schen Verfahren, wodurch er sich von dem Pneunomie-Bacillus Friedländer's unterscheidet.

Der Diplococcus ist der gewöhnliche Erreger der croupösen Pneumonie, ist aber auch als die Ursache entzündlicher Processe der verschiedensten Organe erkannt worden; Nebenhöhlen der Nase, Hirn- und Rückenmarkshäute,[1]) Pleura, Pericard, Peritoneum, Herzklappen, Uterus-Schleimhaut-subcutanes und submucöses Gewebe, Gelenke, Parotis.[2])

Bei der katarrhalischen Pneumonie finden sich meist Streptococcen. Seltener sind Pneumonieen durch Staphylococcen. Die Influenza pneumonie ist durch den Influenzabacillus verursacht. Für die Masernpneumonie ist ein specifischer Organismus noch nicht sicher nachgewiesen.

Fig. 64.
Diplococcus pneumoniae (Diplococcus lanceolatus Fränkel-Weichselbaum) mit Kapseln: Aus der pneumonischen Lunge. Daneben rothe Blutkörperchen. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.

Fig. 65.
Diplococcus lanceolatus ohne Kapseln. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.

Bei manchen Pneumonieen finden sich mehrere der genannten Organismen (Mischinfection) oft in Gesellschaft von Fäulnisserregern (Schluckpneumonieen, Pneumonieen der Paralytiker).

8. Pneumonie-Bacillus Friedländer's.

An den Enden abgerundete, einzeln, paarweise und in Verbänden auftretende längliche Kokken und Kurzstäbchen. Ihre Membran quillt zu einer gallertigen Hülle im Körper auf (daher Kapselkokken). In Kulturen bilden sie keine Gallerthülle, Eigenbewegung fehlt.

Die Organismen färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben. In Gram entfärben sie sich. Die Kapsel bleibt in der Regel in Schnitten ungefärbt, nimmt jedoch bei längerer Färbung die Farbe an.

---

[1]) Bei sporadischer Meningitis cerebrosp. wurde einige Male der Diplococcus pneumoniae und der Diplococcus intracellularis meningitidis gefunden. Auch bei epidemischer Meningitis cerebrosp. wurde der Diplococcus pneumoniae beobachtet.

[2]) Weichselbaum, Ueber seltenere Lokalisationen des pneumonischen Virus. Wiener klinische Wochenschrift. 1888.

Färben der Deckgläser 24 Stunden in der Wärme in:

conc. alkoh. Gentianaviolett	50,0
destillirtem Wasser	100,0
Acid. acet.	10,0.

Entfärben in 0,1procentiger Essigsäure, Alkohol, Oel etc.

Die Kapsel färbt sich blassblau, die Bacillen tiefblau. Bei ungenügender Entfärbung bleibt auch die Kapsel dunkelblau.

Färbung der Kapsel in Deckglaspräparaten nach Friedländer.

1. Die in der Flamme fixirten Präparate werden auf einige Minuten in Essigsäure gelegt.
2. Die Essigsäure wird durch Blasen mit einem Glasrohr oder schnelles Trocknen an der Luft entfernt.
3. Färben einige Secunden in gesättigter Anilinwassergentianaviolettlösung.
4. Abspülen in Wasser, Trocknen, Kanadabalsam.

Fig. 66.
Pneumobacillus (Friedländer). Aus der pneumonischen Lunge mit Kapseln. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.

Fig. 67.
Pneumobacillus (Friedländer). Aus der pneumonischen Lunge, ohne Kapseln; a rothes Blutkörperchen. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.

Darstellung der Kapsel nach Ribbert:

1. Färben wenige Minuten in einer in der Wärme gesättigten Lösung von Dahlia in:

Wasser	100,0
Alkohol	50,0
Eisessig	12,5.

2. Abspülen in Wasser, Trocknen, Kanadabalsam.

Die Bakterien erscheinen tiefblau, die Kapseln hellblau. Bei längerer Färbung färbt sich auch die Kapsel tiefblau, so dass sie nicht mehr von den Kokken zu unterscheiden ist.

Nachweis in Schnitten mit Darstellung der Kapsel:

1. Färben 24 Stunden lang in der Wärme in:

conc. alkoholischer Gentianaviolettlösung	50,0
Aq. destill.	100,0
Eisessig	10.

2. Auswaschen in 1procentiger Essigsäure.
3. Alkohol.
4. Kanadabalsam.

Die Kapsel wird bei passender Entfärbung blassblau, der Bacillus tiefblau, bei ungenügender Entfärbung erscheint auch die Kapsel tiefblau.

Der Bacillus findet sich mitunter bei croupöser Pneumonie und bei Gesunden in den oberen Luftwegen.

9. Bacillus des Rhinoskleroms.

In den aus Granulationsgewebe bestehenden Wucherungen der Haut und Schleimhaut hat zuerst v. Frisch kurze, zu zweien vereinigte und von einer Kapsel umschlossene Bacillen nachgewiesen, die vorwiegend in besonderen Zellen (Zellen von Mikulicz, colloid oder hyalin entartete gequollene Granulationszellen[1]) angetroffen wurden.

Die Rhinosklerombacillen färben sich leicht in Anilinfarben, in Hämatoxylin und Karmin und auch mit Gram, im Gegensatz zu den Pneumonie-Bacillen Friedländer's (Dittrich).

Zur Färbung der Kapseln des Rhinosklerombacillus in Schnitten genügt nach Härtung des Gewebsstücks in Osmiumsäure kurze Färbung mit Hämatoxylin. Die Kapsel färbt sich hell-, die Bacillen dunkelblau. Die Kapseln färben sich besonders gut in Alkoholpräparaten.[2])

Die hyalinen Körper (Zellen von Mikulicz) färben sich intensiv mit Methylviolett, Gentianaviolett, Methylenblau und Fuchsin, weniger mit Safranin, nicht in Hämatoxylin, wohl aber in Eosin. Darum ist Doppelfärbung mit den beiden letztgenannten Farbstoffen zu empfehlen.

Die Erzeugung der Krankheit durch Verimpfung von Rhinosklerombacillen auf Thiere ist bis jetzt nicht geglückt.

Schnittfärbung.

Verfahren von Wolkowitsch.

1. Färben 24—48 Stunden in Anilinwassergentianaviolett.
2. Abspülen in Wasser.
3. 1—4 Minuten in Jodjodkalilösung.
4. Uebertragen in absoluten Alkohol.
5. Nelkenöl, worin noch viel Farbe ausgezogen wird.

An Stelle der Jodjodkalilösung kann auch Pikrinsäure in wässriger Lösung treten. Da sie rascher entfärbt, darf sie nur einige Sekunden einwirken.

Schnittfärbung von Stepanow.

1. Färben $^1/_4$—1 Stunde in Karbolgentianaviolett- oder 24—36 Stunden in Löfflers Methylenblaulösung.
2. Kurze Entfärbung in essigsäurehaltigem Spiritus ($^1/_4$—$^1/_5$ % Essigsäure) oder reinem Spiritus.

Deckglaspräparate von Kulturen.

1. Einige Sekunden lange Einwirkung von 1procentiger Essigsäure auf die fixirten Präparate.
2. Trocknen.

---

[1]) Aetiologie des Rhinoskleroms von Dr. P. Dittrich, Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde 1889, Bd. V, No. 5.

[2]) Frische Gewebsstücke kommen 24 Stunden in Osmiumsäure 1 %, darauf in absoluten Alkohol, Färben einige Minuten in erwärmter Anilinwassergentianaviolettlösung (6 B), Behandlung nach Gram.

3. Färben 1 Minute lang in starker Anilinwassergentianaviolettlösung.
4. Abspülen in Wasser.
5. Färben einige Sekunden lang in 1—2 procentiger Eosinlösung.
6. Uebertragen in 60procentigen Alkohol.
7. Wasser.
8. Trocknen, Kanadabalsam.

10. Bacillus der Mäusesepticämie.

Er ist etwas dünner wie der des Schweinerothlaufs, mit Eigenbewegung und enthält öfters kleine glänzende rundliche Stellen, welche vielleicht Sporen sind.

Er färbt sich leicht mit Anilinfarben und nach Gram.

11. Bacillus des Schweinerothlaufs.

Die feinen Stäbchen, welche Eigenbewegung besitzen, bilden auch mitunter lange Fäden. Sie haben grosse Aehnlichkeit mit dem Bacillus der Mäusesepticämie. Anilinfarben sind sie ebenso zugänglich und färben sich ebenso nach Gram.

12. Die Bacillen der Septicämia haemorrhagica (Hüppe).

Hierher gehören die Hühnercholera, die experimentelle Kaninchensepticämie von Gaffky, die spontane Kaninchensepticämie von Eberth und Mandry, die Schweineseuche von Löffler und Schütz, die Rinder- und Wildseuche bei Roth- und Schwarzwild, Brustseuche der Pferde, Büffelseuche (Barbone) in Ungarn, die Frettchenseuche von Eberth und Schimmelbusch. Färbung mit Löffler's Kalimethylenblau.

13. Der Bacillus der Bubonenpest.

Der kurze, dicke Bacillus mit abgerundeten Enden ohne Eigenbewegung färbt sich in basischen Anilinfarben und zwar stärker an den Enden wie in der Mitte. Nach der Gram'schen Methode färbt er sich nicht, nach Löffler's Methode der Geisselfärbung lässt sich in Trockenpräparaten eine Kapsel deutlich machen.

14. Bacillus pyocyaneus.

Ein schlankes, abgerundetes, mitunter in kurzen Ketten vorkommendes Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung, von dem verschiedene Rassen existiren. Er erzeugt theils fluorescirenden, theils grünen Farbstoff auf dem Nährboden, wie z. B. im Eiter, wächst auch ohne Farbstoffproduction und ist für Meerschweinchen und Kaninchen pathogen. Gram's Färbung versagt.

15. Bacterium termo, die Proteusarten Hauser's.

Bacterium termo. Mit diesem Namen werden überhaupt die in faulenden Flüssigkeiten vorkommenden lebhaft beweglichen kurzen einfachen und oft zu zweien miteinander verbundenen Stäbchen, welche die Erreger der Fäulniss sind, bezeichnet. Bacterium termo ist also nicht eine bestimmte Species, sondern nur ein Sammelname für mehrere, wahrscheinlich sehr miteinander verwandte Arten — die Proteusarten Hauser's.

In faulenden Substanzen finden sich nach Hauser besonders häufig 3 pleomorphe Bacterienarten, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus Zenkeri. Ihre Stoffwechselproducte sind für Thiere pathogen.

Proteus Hauser ist identisch mit dem Urobacillus septicus liquefaciens, zersetzt den Harnstoff, ist häufig Ursache der Cystitis.[1])

Der mit Unrecht als die Ursache der Eklampsie angesehene Bacillus gehört nach Hofmeister[2]) ebenfalls zu den Proteusarten.

Proteus färbt sich in den gewöhnlichen Anilinfarben.

16. Bacillus des Milzbrands.

Die Milzbrandstäbchen sind glashelle, an den Ecken leicht abgerundete Stäbchen ohne Eigenbewegung, etwa von der Länge des Durchmessers eines rothen Blutkörperchens. In Trockenpräparaten erscheinen die Enden etwas verdickt und die Endflächen quer abgestutzt oder leicht vertieft (Fig. 70). Sie finden sich im Blut, besonders zahlreich in den feineren Gefässen und mitunter in den Geweben.

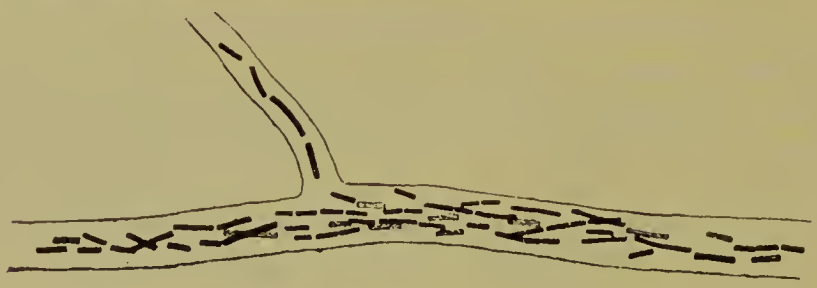

Fig. 68.
Milzbrandbacillen in einer Kapillare des Zwerchfells der Maus. Gentianaviolett. 600 : 1.

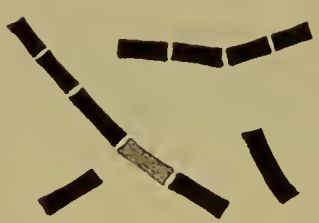

Fig. 69.
Milzbrandbacillen. Deckglastrockenpräparat. Nach dem mikroskopischen Bild vergrössert.

Bei zu starker Erhitzung zieht sich das Protoplasma zusammen, zerfällt in Körner und verweigert die Farbaufnahme, die sonst sehr leicht erfolgt.

[1]) J. Schnitzler. Zur Aetiologie der Cystitis. Wien und Leipzig bei Wilh. Braumüller.

[2]) Fortschritte der Medicin 1892.

Methylviolett, Gentianaviolett, Fuchsin und das Gram'sche Verfahren färben rasch und intensiv. Bei dem letzteren ist Jodjodkalium vorsichtig zu gebrauchen; eine Entfärbung durch die Gegenfarbe tritt leicht ein.

Für Schnittpräparate empfiehlt sich wässrige Gentianaviolettlösung und Auswaschen in Alkohol, oder Methylviolettlösung; die Bacillen erscheinen dunkel-, die Kerne hellblau. Bei Anwendung des Gram'schen Verfahrens Nachfärbung mit Bismarckbraun oder Vorfärbung mit Lithionkarmin und Nachfärbung nach Weigert. Betreffs der Sporenfärbung siehe S. 190.

17. Bacillus des malignen Oedems.

Die Stäbchen sind dünn und schmäler als die Milzbrandbacillen, oft zu langen Fäden vereinigt und an den Enden abgerundet. Sie bewegen sich durch Geisseln. Ihr Fundort ist das Oedem, der Gewebssaft und das Blut; in der Regel sind die Gefässe frei. Sie färben sich mit den wässrigen Anilinfarben in Trockenpräparaten wie Schnitten, schwieriger mit Gram.

Fig. 70.
Bacillus des malignen Oedems. a vegetative Form, b beginnende Sporenbildung, c freie Sporen. Agarkultur, Deckglaspräparat. Fuchsinfärbung. 1000 : 1.

18. Bacterium coli commune.

Dieser Organismus, ein an den Enden abgerundetes plumpes Stäbchen, hat grosse Aehnlichkeit mit dem Typhusbacillus. Auch den Anilinfarben gegenüber verhält er sich sehr ähnlich und wird ebenso wie jener in Gram entfärbt. Vergl. Typhusbacillen S. 218. Er ist ein regelmässiger Bewohner des Darmkanals; bei Kothstauung und Incarceration vermehrt er sich rasch und wandert durch die Darmwand in das Peritoneum über, wo er Peritonitis hervorruft. Wir finden ihn darum im Bruchwasser. Ebenso ist es bei Verletzungen des Darms und Perforationen Ursache der nachfolgenden Peritonitis.

Auch entzündliche Processe des Urogenitalapparats (eitrige Nephritis, Pyelonephritis, Cystitis) sind durch diesen Organismus erzeugt. Er scheint sogar die häufigste Ursache der Cystitis (Krogius und Schnitzler) und schwerer, oft unter dem Bilde typischer Cholera verlaufender Darmkatarrhe.

Neuerdings ist er wiederholt als Ursache eitriger Strumitis erkannt worden.

Dem Bacterium coli commune stehen nahe Emmerich's Bacillus (B. neapolitanus), Bacterium coli anindolicum, Bacterium coli anäcrogenes (ohne Eigenbewegung).

19. Bacillus des Abdominaltyphus.

Kurzes Stäbchen, etwa dreimal so lang als breit, ungefähr ein Drittheil so gross wie ein rothes Blutkörperchen, mit abgerundetem Ende, mehreren Geisselfäden an der Oberfläche, lebhaft beweglich. Daneben finden sich auch längere Scheinfäden. Der Bacillenleib ist oft von lichten Stellen unterbrochen. Sporen sind bis jetzt nicht nachgewiesen.

Fig. 71.
Typhusbacillus aus der Lymphdrüse. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.

Die Bacillen finden sich in der Darmschleimhaut und der übrigen Darmwand, besonders dem Follikelapparat, in den Lymphdrüsen, der Milz, mitunter in der Leber, Niere, Harn, Rückenmark, Knochenmark, im Blute, den Dejektionen, im Eiter (Empyem) und subperiostalen Abscessen Typhöser wie in der Lunge.

Im Vergleich mit Fäulnissbacillen färben sich die des Typhus in Schnitten mit Anilinfarben (Methylviolett) nicht sehr scharf. Besser ist die Färbung in Gentianaviolett, in Löffler's Methylenblau (24 Stunden) und Ziehl'schem Karbolfuchsin. Nach Gram färben sie sich nicht.

Für Schnittpräparate.

1. Färbung in Löffler's Kalimethylenblau, 24 Stunden.
2. Auswaschen in schwach essigsaurem Wasser, mehrere Stunden.
3. Alkohol absol. etc.

Sehr gute Bilder giebt auch Löffler's Anilinwasserfuchsinlösung mit Natronlauge.

Zu dem Anilinwasser wird festes Fuchsin gegeben und soviel Natronlösung von 1% oder besser 1‰ zugefügt, bis die in einer Schicht von einigen Centimetern klare, durchsichtige Lösung undurchsichtig zu werden beginnt. Unna hat diesen Zustand als Schwebefällung bezeichnet.

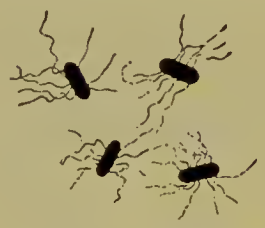

Fig. 72.
Typhusbacillus mit Geisseln aus einer 6 Stunden alten Agarkultur. Deckglastrockenpräparat. Färbung nach Löffler. 1000 : 1.

Später scheidet sich der Farbstoff aus. Die grösste Färbekraft besitzt die Lösung bei eintretender Schwebefällung.

1. Färben in der Anilinwasserfuchsinlösung, 3—8 Stunden.
2. Entfärben in essigsaurem Wasser, verschiedene Stunden.
3. Entwässern in Alkohol abs.
4. Kanadabalsam.

In Deckglaspräparaten lassen sich dagegen die Typhus-Bacillen mit den gewöhnlichen Anilinfarben Methylviolett 5 B, Gentianaviolett, Bismarckbraun recht gut färben, nur vermeide man Abspülen in Alkohol. Chantemesse und Widal empfehlen Violett 6 B oder Fuchsin-Rubin in alkoholischer Lösung verdünnt mit 2 Dritttheilen Wasser. Die Objekte bleiben 1 Minute in der Farbflüssigkeit, werden in Wasser abgewaschen, getrocknet und in Balsam eingeschlossen.

20. Der Tetanusbacillus.

Dieser Bacillus ist etwas kleiner als der Bacillus des malignen Odems, mit geringer Eigenbewegung und findet sich in der Umgebung der Infektionsstelle in Gemeinschaft mit anderen Organismen. Manche Exemplare enthalten eine endständige Spore. Diese Stäbchens sind meist ohne Eigenbewegung.

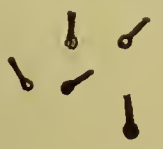

Fig. 73. Tetanusbacillen. Sporentragende Stäbchen aus einer Agarkultur. Deckglaspräparat. Fuchsin. 1000 : 1.

Der Tetanusbacillus färbt sich leicht mit kalten, wässrigen Farbstofflösungen und nach der Gram'schen Methode.

21. Der Rauschbrandbacillus.

Bacillus des charbon symptomatique.

Dieser Organismus, welcher sich in den emphysematösen Geweben findet, besitzt wie der Bacillus des malignen Odems mehrere Geisseln und Eigenbewegung. Die Sporen entstehen nicht ganz in der Mitte und veranlassen keulenförmige Auftreibung des Stäbchens. Die Färbung gelingt leicht in kalten Farblösungen, jedoch nicht nach Gram.

Fig. 74. Sporen und sporentragende Stäbchen des Rauschbrandbacillus. Kultur in Traubenzuckergelatine. Fuchsinfärbung. 1000 : 1.

22. Der Rotzbacillus.

Das kleine Stäbchen ohne Eigenbewegung färbt sich nicht nach Gram in den wässrigen Lösungen der Anilinfarben, und selbst in Deckglaspräparaten nicht intensiv. Besser färbt alkalisches frisch bereitetes Anilinwassergentianaviolett mit gleichen Theilen einer Kalilösung von 1 : 10000. Vor dem Auswaschen Entfärben in einer 1procentigen Essigsäure mit etwas Tropäolin, wodurch das Protoplasma ganz und die Kerne wenigstens etwas entfärbt werden.

Fig. 75. Rotzbacillen. Reinkultur auf Glycerinagar, Deckglastrockenpräparat. Färbung mit Karbolfuchsin. 1000 : 1.

1. Färben 5 Minuten in alkalischer Methylenblaulösung oder kalihaltiger Anilinwassergentianaviolettlösung.
2. 1 Sekunde lange Einwirkung von 1procentiger mit Tropäolin hellgelb gefärbter Essigsäure.
3. Rasches Auswaschen in Aqua destill.
4. Alkohol, Oel, Balsam.

Schnittfärbung geschieht in derselben Weise; entfärbt wird statt in tropäolinhaltiger Essigsäure durch 5 Sekunden langen Aufenthalt in

Oxalsäure, 5procentig	1	Tropfen,
Concentrirte schweflige Säure . .	2	„
Aq. destill.	10	„

Besser ist vor Färbung Einlegen der Schnitte in Kalilösung von 1 : 10 000.

Kühnes Verfahren besteht in der Anwendung seiner Methylenblaumethode siehe Seite 205 und Doppelfärbung mit etwas Safranin in Terpentinöl.

Verfahren nach Schütz.

1. Färben 24 Stunden in conc. alkoholischer Methylenblaulösung 30 ccm, Kalilauge 1 : 10000 100 ccm.
2. Waschen in angesäuertem Wasser.
3. 5 Minuten in Alkohol von 50 %.
4. 5 Minuten in absol. Alkohol.
5. Cedernöl, Kanadabalsam.

Noniewicz sucht die Bacillen stärker zu färben, um sie dadurch besser von dem mitgefärbten Gewebe abzuheben.

1. Färben 2—5 Minuten in Löffler's Methylenblaulösung.
2. Waschen in destillirtem Wasser.
3. Entfärben 1—5 Sekunden in einer Lösung von
   ½ % Essigsäure . . . . . 75 Theile,
   ½ % wässrige Lösung von Tropäolin . . 25 Theile.
4. Waschen in Aq. destill.
5. Entwässern der auf Objektträger ausgebreiteten Schnitte mit Fliesspapier, hierauf an der Luft, dann über der Weingeistflamme.
6. Aufhellen durch wiederholtes Auftropfen von Xylol (Nelken-, Origanum-, Anilinöl sind zu vermeiden).
7. Kanadabalsam.

Die Rotzbacillen erscheinen dunkelblau, die Gewebe hellblau.

23. Der Influenzabacillus.[1])

Der von Canon, im Blute, im gelbgrünen Auswurf, dem Nasensekret, in der Lunge und dem pleuritischen Exsudat gefundene Bacillus ist ein kleines Stäbchen mit leichter Unterbrechung in der Mitte, wodurch er an einen Diplococcus erinnert,

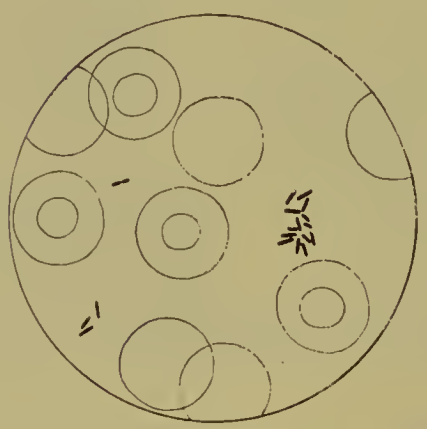

Fig. 76.
Influenzabacillus. Deckglastrockenpräparat vom Blut eines Influenzakranken mit Alkohol auf Deckglas fixirt. Färbung in Eosin-Methylenblau 1 : 1000.

Deckglaspräparate werden zehn Minuten in Alkohol absol. fixirt.

Gram entfärbt die Bacillen.

Die Färbung gelingt etwa sschwer in Karbolfuchsin (nach ½ Stunde) oder Löffler's Methylenblau, in Eosin-Methylenblaulösung (Lösung von Chenzinsky). Sehr geeignet erwies sich die Plehn'sche für Malariaplasmodien gebrauchte frisch dargestellte Mischung.

Concentrirte ältere wässrige Methylenblaulösung 40
½procentige frische Eosinlösung in 70procentigem Alkohol . 20
Aq. destill. 40

[1]) Die Influenzabacillen im lebenden Blute. Virchow's Archiv. Bd. 131. Heft 3. 1893.

Filtriren.

1. Färben der Blutpräparate in verschlossenen Schälchen bei 37° C. 20—24 Stunden.
2. Abspülen in Wasser.
3. Abtrocknen.
4. Kanadabalsam.

24. Der Syphilisbacillus.

Durch ein eigenthümliches Färbungs- resp. Entfärbungsverfahren ist es Lustgarten[1]) gelungen, in den Producten der Syphilis eigenthümliche, den Tuberkelbacillen ähnliche Stäbchen aufzufinden. Sie unterscheiden sich sofort von den Tuberkelbacillen dadurch, dass sie bei Behandlung mit Säuren entfärbt werden. Die von Lustgarten geübte Methode ist folgende:

1. Färben der Schnitte resp. Trockenpräparate 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur und nachher noch 2 Stunden lang im Brütofen bei 40° in Anilinwasser-Gentianaviolettlösung.
2. Abspülen mehrere Minuten (3—5) in Alkohol absol.
3. Entfärben in $1^1/_2$procentiger wässriger Lösung
   a) von übermangansaurem Kali 10 Sekunden, wobei ein flockiger Niederschlag entsteht, und dann
   b) wenige Sekunden lang in wässriger Lösung von reiner schwefliger Säure, durch welche der Niederschlag rasch gelöst wird.
4. Abspülen in Wasser.
5. Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Beim Abspülen in destillirtem Wasser zeigt sich dann gewöhnlich, dass die Entfärbung noch nicht ganz vollständig ist; der Schnitt kommt dann abermals wenige Sekunden (3—4) lang in Kali hypermanganicum, dann wieder in schweflige Säure; event. muss diese Procedur mehrmals wiederholt werden. Nachfärbung mit Saffranin.

Ein einfacheres Verfahren hat dann Giacomi mitgetheilt.

1. Färben der Deckglaspräparate in heisser Anilinwasser-Fuchsinlösung mehrere Minuten.
2. Auswaschen in Wasser, dem einige Tropfen Eisenchloridlösung zugesetzt sind.
3. Entfärben in concentrirter Eisenchloridlösung.

In der Eisenchloridlösung tritt ebenfalls zu Anfang ein Niederschlag auf.

4. Auswaschen in Alkohol absol.

Die Syphilisbacillen bleiben roth, während die anderen entfärbt werden. Die Methode ist auch für Schnitte anwendbar.

Doutrelepont[2]) färbt die Syphilisbacillen mit wässriger Methylviolett-(6 B-)lösung oder nach Brieger mit Thymolmethylviolett 48 Stunden lang und entfärbt nach Giacomi mit Liquor ferri sesquichlorat. und Alkohol.

---

[1]) Lustgarten: die Syphilisbacillen, Wien, 1885. W. Braumüller.
[2]) Vierteljahrsschrift für Dermatologie und Syphilis. 1887.

Da in syphilitischen Herden innerer Organe die Lustgarten'schen Bacillen, wenige Fälle ausgenommen, bei denen vielleicht eine Verwechslung mit Tuberkelbacillen[1]) vorlag, vermisst wurden, so dürfte ihre specifische Natur noch zweifelhaft sein, um so mehr, als ein in vielen Beziehungen ähnlicher Bacillus im Smegma (einfacher Smegmabacillus) Nichtsyphilitischer gefunden wurde, Alvarez und Tavel[2]) und Matterstock.[3]) Solche Smegmabacillen mögen gelegentlich auch in die Syphiliseruptionen gelangen.

Nach späteren Untersuchungen von J. Lewy[4]) unterscheiden sich die Smegmabacillen von denen der Lustgarten'schen Syphilisbacillen in einigen Punkten, unter Anderem wurden sie durch die Methode von Doutrelepont nicht gefärbt.

25. Die Smegmabacillen.

Sie finden sich in den äusseren Geschlechtsorganen und auf der Haut und verdienen wegen einer gewissen Aehnlichkeit mit Tuberkelbacillen besondere Berücksichtigung. Zuspitzung der Enden, eine grössere Plumpheit, das Vorkommen an Epithelzellen sind für Smegmabacillen charakteristisch; Tuberkelbacillen finden sich im Sputum und dem Secret der Harn- und Geschlechtsorgane mehr zopfartig angeordnet.

Die Smegmabacillen färben sich wie die Tuberkelbacillen, sie widerstehen aber weniger der Entfärbung. Bei Einwirkung von Salzsäure und Alkohol auf Smegma- und Tuberkelbacillen während einer gewissen Zeit (mehrere Minuten) werden erstere entfärbt, die letzteren nicht. Nach Bunge und Trautenroth giebt es jedoch Smegmabacillen, welche die Farbe sehr fest halten. Für diese empfehlen die genannten Forscher absoluten Alkohol und Chromsäure vor der Färbung.

1. Fixirung und Entfettung der Ausstrichpräparate in absolutem Alkohol (3 Stunden), dann Einwirkung 5procentiger Chromsäurelösung $^1/_4$ Stunde Auswaschen in mehrmals gewechseltem Wasser.
2. Färbung mit Karbolfuchsin bis zum leichten Aufkochen, nach dem Erkalten:
3. Entfärbung mit verdünnter Schwefelsäure 3 Minuten.
4. Nachfärbung mit conc. alkoholischer Methylenblaulösung 5 Minuten.

Bei Färbung nach Gram tritt in der Regel Entfärbung nach Alkohol ein, jedoch nicht bei der Weigert'schen Modification des Verfahrens (Entfärbung mit Anilinöl).

---

[1]) Tuberkelbacillen reagiren auch auf das Verfahren von Lustgarten.
[2]) Archiv der Physiologie norm. et patholog. 1885, No. 7.
[3]) Verh. der Würzburger phys. med. Gesellschaft. Juni 1885.
[4]) Lewy, Joseph. Ueber Syphilis- und Smegmabacillen. (Inauguraldissertation.) Bonn, 1889, und Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde, No. 19, 1889.

26. Der Tuberkelbacillus.

Das feine Stäbchen 1,6 bis 3,5 μ lang, meist leicht gekrümmt, ungegliedert, ohne Eigenbewegung mit spitz gerundeten Enden findet sich isolirt und in Haufen. Bei den Degenerationsformen tritt eine Art Gliederung dadurch auf, dass innerhalb der Bacillenhülle der Inhalt in rundliche Kügelchen sich sondert. Der Bacillus scheint dann bei nicht sehr scharfer Färbung der Membran aus einer Reihe von coccenähnlichen Stückchen zu bestehen, in welche er auch schliesslich zerfällt. Sporenbildung ist bis jetzt nicht nachgewiesen.

Anderen Spaltpilzen gegenüber zeichnet sich der Tuberkelbacillus durch seinen Widerstand gegen die gebräuchlichen Bacillenfarbstoffe aus. Er nimmt die Farbe viel schwieriger an, vielleicht weil seine Hülle den Farbstoffen schwer Zutritt gestattet.[1]) Diesen Widerstand können wir jedoch beseitigen durch längeres Einwirken der Farbstofflösungen, unterstützt durch höhere Temperatur, durch Alkalien und Säuren (Kali, Anilinöl, Anilinwasser, Karbolsäure), die wir mit den Farbstoffen auf die Bacillen wirken lassen. Wir nehmen an, dass dadurch die Bacillenhaut für die Farbstoffe durchgängig wird.

Unterscheiden sich die Tuberkelbacillen von einer grossen Zahl von Organismen durch die Schwierigkeit der Färbung, so zeichnen sie sich ebenso aus durch die Hartnäckigkeit, mit der sie die Farbe bei dem Entfärbungsverfahren festhalten. Diese Eigenschaft ist geradezu specifisch (Säurefestigkeit). Dadurch allein ist die Möglichkeit geboten, die Tuberkelbacillen selbst in Gemischen der verschiedenartigsten Bacillen isolirt zu färben.

Fig. 77.
Tuberkelbacillen aus Sputum. Deckglastrockenpräparat. Färbung mit Karbolfuchsin, entfärbt mit dünner Salpetersäure. 1000 : 1.

Daraus ergiebt sich für die Tuberkelbacillen die Regel:

1. Lange und intensiv zu färben.
2. Unterstützung der Färbung durch Säuren und Alkalien.
3. Unterstützung der Färbung durch höhere Temperatur, in welchem Falle das Färbungsverfahren wesentlich abgekürzt werden kann.
4. Stärkere Entfärbung.

---

[1]) Der Tuberkelbacillus enthält 2 Fettsäuren, welche eine zusammenhängende Schicht in dessen Körper bilden und ihn gegen Angriffe von Aussen schützen. Die eine Fettsäure ist in verdünntem Alkohol löslich und wird durch Natronlauge leicht verseift, die andere ist schwer verseifbar und löst sich nur in kochendem Alkohol oder Aether. Nach Behandlung mit Salpetersäure und Alkohol wird die eine Fettsäure gelöst, die zweite in kaltem Alkohol unlösliche nicht. Diese nimmt die charakteristische Tuberkelbacillenfärbung an.

Zur Färbung findet am besten Verwendung:

Fuchsin,
Methylenblau,
Gentianaviolett,
Methylviolett.

Bei Schnitt- und Deckglaspräparaten ist die Färbung[1]) im Wesentlichen dieselbe, nur nimmt sie bei ersteren längere Zeit in Anspruch, Schnitte bleiben 12—24 Stunden, event. bei Brutofentemperatur, Deckglastrockenpräparate 3—5 Min. in der erwärmten Farblösung.

Fig. 78.
Tuberkelbacillen aus Sputum. Degenerationsformen. Deckglastrockenpräparat. Färbung mit Karbolfuchsin, entfärbt mit verdünnter Salpetersäure. Nach dem Mikroskopbild vergrössert.

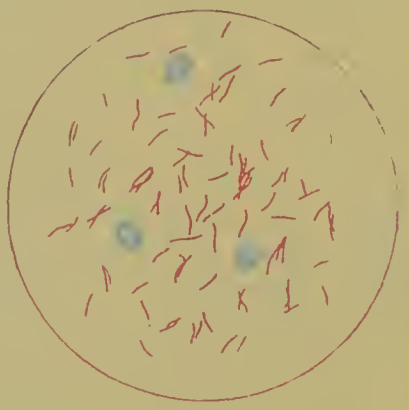

Fig. 79.
Tuberkelbacillen in Sputum. Deckglastrockenpräparat. Färbung mit Karbolsäurefuchsin, Gegenfärbung mit wässrigem Methylenblau. Vergrösserung 1000 : 1.

Für die Doppelfärbung:

1. Bacillenfärbung mit Fuchsin, Gewebsfärbung mit Methylenblau oder Malachit-, Säure-, Guineagrün I.
2. Bacillenfärbung mit Methylenblau, Gentiana- oder Methylviolett, Gewebstärbung mit Vesuvin.

Zur Entfärbung wird Schwefelsäure, Salzsäure (5 %),[2]) Salpetersäure (30 %) verwendet. Letztere wirkt etwas eingreifend.

Um bei schwer färbbaren, im Absterben begriffenen oder bereits abgestorbenen Bacillen nicht zu stark zu entfärben, hat Czaplewski statt der Säureentfärbung die Differenzirung durch partielle Umfärbung eingeführt. Diese Färbung, bei welcher durch die zweite Farbe

---

[1]) Das Auffinden der Tuberkelbacillen wird durch leuchtende Färbung erheblich erleichtert. Darum ist Fuchsinfärbung jeder anderen, selbst der mit Gentianaviolett, vorzuziehen; Methylviolett färbt nicht kräftig und ist nicht sehr haltbar.

[2]) Die mit Salzsäure entfärbten Präparate erblassen weniger rasch als die mit Salpetersäure behandelten.

(Gegenfarbe) die erste aus den Geweben, aber nicht aus den Bacillen verdrängt wird, ist schonender, als die Säureentfärbung und dauert nur wenig länger.

Nach der Entfärbung mit Säure spült man am besten mit verdünntem Alkohol (6 Theile auf 4 Theile Wasser oder 60procentigem Alkohol) ab.

Durch Wasserbehandlung würde die in Alkohol schwerer lösliche einfach saure Verbindung wieder hergestellt werden.

Betreffs Herstellung von Deckglaspräparaten zur Untersuchung auf Tuberkelbacillen sei auf Kapitel »Deckglastrockenpräparate und Sputum« verwiesen.

Verfahren von Koch.

1. Färbung des Schnittes resp. Trockenpräparates 24 Stunden in einem Gemisch aus
   - Aq. destill. . . . . 200,0 ccm
   - Concentrirter alkohol.
   - Methylenblaulösung . . 1,0 ccm
   - 10procentiger Kalilauge . 0,2 ccm.

Das Präparat erscheint dunkelblau. Hierauf:

2. Abspülen in Wasser.
3. Uebertragen zur Grundfärbung auf 15 Minuten in eine concentrirte wässrige Lösung von Vesuvin.
4. Abspülen in destillirtem Wasser bis die blaue Farbe geschwunden und nur eine braune Farbe zurückgeblieben ist.
5. Entwässern in Alkohol.
6. Aufhellen in Nelkenöl.

Deckglaspräparate werden nach dem Auswaschen (4) getrocknet und in Wasser oder Oel oder Balsam untersucht.

Die Kerne, sowie die meisten Arten der Mikrokokken erscheinen braun gefärbt, als ob sie lediglich der Vesuvinlösung ausgesetzt gewesen wären; die Tuberkelbacillen dagegen sind intensiv blau. Die Vesuvinlösung hat die erste Färbung überall verdrängt, mit Ausnahme der Tuberkelbacillen, welche die ursprüngliche blaue Färbung voll beibehalten haben.

Verfahren von Ehrlich.

Rascher als mit dem Koch'schen Verfahren wird die Färbung der Tuberkelbacillen durch die Koch-Ehrlich'sche Anilinwasserfarbstofflösung[1]) erreicht.

1. Färben der Schnitte oder Trockenpräparate in Anilinwasser-Fuchsin oder Gentiana- oder Methylviolettlösung 12—24 Stunden bei Zimmertemperatur, Deckglaspräparate einige Minuten in dampfender Farblösung.
2. Abspülen und Entfärben in 20—25procentiger Salpetersäure ($^1/_2$—1 Minuten) so lange, dass nicht aller Farbstoff verschwunden ist.

---

[1]) 4 ccm Anilinöl (Anilin) werden mit
100 ccm Wasser
geschüttelt. Ein grosser Theil Anilin löst sich. Man filtrirt durch ein angefeuchtetes Filter die nicht gelösten öligen Anilintröpfchen ab und setzt zu dem klaren Filtrate dem Anilinwasser
11 ccm concentrirte alkoholische Fuchsin-, Gentiana- oder Methylviolettlösung.
Die Mischung wird geschüttelt. Da sich das Gemisch bald trübt und erst nach etwa 24 Stunden wieder klärt, ist es für Schnitte erst jetzt, für Deckglaspräparate frisch bereitet zu gebrauchen. Die Lösung hält sich 3—4 Wochen.

3. Abspülen in Alkohol (70 %), bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird.
4. Nachfärbung (wenige Minuten). Für blaue Präparate in Bismarekbraun, für rothe in Methylenblau oder Malachitgrün.
5. Auswaschen in Wasser oder Alkohol von 60 %.
6. Untersuchen in Wasser oder
7. Trocknen resp. Entwässern.
8. Einschluss in Oel oder Kanadabalsam.

Ein sehr empfindliches Verfahren für den Nachweis von Tuberkelbaeillen in Deckglaspräparaten ist folgendes von Ehrlich:

1. Färben der Deckglaspräparate in wässriger Fuchsinlösung (24 Stunden).
2. Fuchsin-Anilin (24 Stunden).
3. Kurzes Spülen in Alkohol resp. kurze Behandlung mit Sulfanilin-Salpetersäure und nachheriges energisches Abspülen in Wasser.
4. Einlegen in eine concentrirte Natriumbisulfid-Lösung (24—36 Stunden).
5. Einlegen in eine Schale kurz vorher gekochten Wassers.
6. Trocknen der Präparate, Untersuchung ohne Nachfärbung.
7. Kanadabalsam.

Verfahren von Ziehl-Neelsen.

Bei dieser Methode ist das Anilinöl durch Karbolsäure ersetzt.

1. Färbung 3—5 Minuten über der Flamme in Karbolsäure-Fuchsin

Destillirtes Wasser . . .	100 gr,
Acid. carbol. eryst. . . .	5 gr,
Alkohol	10 gr,
Fuchsin	1 gr.

2. Abspülen in Wasser oder nach 1:
3. Entfärben in 5procentiger Schwefelsäure oder 15procentiger Salpetersäure.
4. Auswaschen in 70procentigem Alkohol.
5. Gegenfärbung in wässrigem Methylenblau $1\frac{1}{2}$—2 Minuten.
6. Abspülen in Wasser.
7. Trocknen.
8. Kanadabalsam.

Die Vorzüge des Verfahrens sind gute Tinktion, worin es jedoch von der Ehrlich'schen Färbung noch übertroffen wird, und die längere Haltbarkeit der Farbmischung. Deckgläser werden bei Zimmertemperatur $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ Stunde, Schnitte in einer Stunde gefärbt. Gegenfärbung mit Methylenblau oder Malachitgrün.

Bernhard Fränkel's Verfahren.

Dies vereinigt die Entfärbung und Gegenfärbung in einem Akt. Dadurch ist das ganze Verfahren, speciell die Untersuchung des Sputums, sehr vereinfacht.

1. Färbung der Deckgläser in Anilinwasserfuchsin [1]) 5 Minuten.
2. Entfärbung und Gegenfärbung in einigen Secunden in

Wasser	50
Alkohol	30
Acid. nitric. und alkoholischem Methylenblau	20

bis zur Sättigung.

[1]) Anilinwasser wird im Reagenzglas aufgekocht, in ein Schälchen gegossen und alkoholisches Fuchsin bis zur Sättigung zugefügt. Statt Anilinwasserfuchsin kann auch Ziehl'sches Karbolfuchsin gebraucht werden.

Der Farbstoff wird durch die Säure entzogen, bleibt jedoch in den Bacillen. Die entfärbten Theile aber färben sich sofort mit dem Methylenblau. Abspülen in Wasser und Untersuchung in demselben oder nach Trocknung in Oel oder Kanadabalsam. Dauer der Färbung 4 Minuten.

Gabbet's Färbung.

Das Verfahren ist eine Modifikation der Ziehl-Neelsen'schen Methode mit der von Fränkel befürworteten Modifikation des Zusammenziehens der Entfärbung und Nachfärbung in einen Akt.

1. Färbung 2 Minuten in Ziehl's Karbolfuchsin ohne Erwärmen.
2. Abwaschen in Wasser.
3. Entfärbung und Gegenfärbung in:

   Methylenblau . . . . . 1—2,
   Schwefelsäure 25procentig . . . . . 100.
4. Auswaschen in Wasser.
5. Trocknen, bei Schnitten Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Das Verfahren ist rasch. Es tritt jedoch leicht Entfärbung ein, die bei getrennter Entfärbung und Nachfärbung eher zu vermeiden ist.

Kühne's Verfahren.

Zur Färbung von Tuberkelbacillen in Schnitten.

1. Karbolfuchsin[1]) 10 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Ausziehen in Fluorescëinalkohol wenige Minuten.
4. Aetherisches Oel, Xylol, Balsam.

Für Doppelfärbung Einlegen der Schnitte nach 3, in Methylgrün-Anilinöl 5 Minuten.

Das neuere Verfahren von Kühne, welches zur Gegenfärbung Pikrinsäure in Anilinöl benutzt, hat den Nachtheil, dass es die zelligen Theile des Sputums nicht sichtbar macht.

Verfahren von Czaplewski.

Das Verfahren sucht die stärkere Säureentfärbung eines Theils der Bacillen durch Fluorescëin abzuschwächen.

1. Färben in erwärmtem Karbolfuchsin (Ziehl) bis zum Sieden.
2. Abtropfen des Karbolfuchsins.
3. Uebertragen in Fluorescëinmethylenblau,[2]) in welches 6—10 Mal hintereinander das Deckglas eingetaucht wird, worauf man immer wieder die Flüssigkeit langsam vom Deckglas abfliessen lässt.
4. Nachfärben in concentrirter alkoholischer Methylenblaulösung. Die Proceedur des Eintauchens der Deckgläschen und Abfliessens der Farblösung wird 10—12 Mal vorgenommen.

---

[1]) Fuchsin . . . . . 1,0.
Alkohol . . . . . 10,0.
5procentige Karbolsäure . . 100,0.

[2]) Gelbes Fluorescëin in concentrirter alkoholischer Lösung, dem Methylenblau in Substanz bis zum Ueberschuss zugesetzt ist.

5. Rasches Abspülen in Wasser, Untersuehen in Wasser oder Trocknen und Kanadabalsam.

Die Tuberkelbaeillen erscheinen kräftig und intensiv roth mit einem Stich ins Violette. Dauer des Verfahrens 3 Minuten. Besonders für Objekte mit wenig Bacillen, da dureh die schonende Entfärbung ein Verlust an Baeillen bei stärkerer Entfärbung durch Säure verhütet wird.

Für den Nachweis einzelner Tuberkelbacillen in Schnitten werden die Methoden von Ehrlich und Neelsen, die eine längere Einwirkung des Farbstoffes gestatten, darum den Vorzug verdienen.

Färbung der Tuberkelbacillen naeh Letulle[1])
(für Präparate aus Müller'scher Flüssigkeit).

Das Verfahren ist eine Modifikation des von Russel für das Hyalin gebrauehten.

1. Die Sehnitte werden im Wasser ausgewaschen und für Kernfärbung in Hämatoxylin übertragen. Dann werden sie
2. kurz in Wasser abgespült. Darauf
3. Färbung $^1/_4$ Stunde lang in phenylisirter Rubinlösung (mit Rubin gesättigtes 2procentiges Phenylwasser).
4. Schnelles Abwaschen in Wasser (1 Min.).
5. Uebertragen des Präparates auf $^1/_2$ Min. in absol. Alkohol.
6. Fünf Minuten langes Verweilen des Präparates in phenylisirter Lösung von Jodgrün (2procentiges phenylisirtes Wasser 100 gr, Jodgrün 1 gr).
7. Waschen in Alkohol absol.
8. Bergamottöl, Xylol ete.

Dauer des Verfahrens $^1/_2$ Stunde; die Kerne erscheinen violett, die hyalinen Körper kirschroth, die Tuberkelbacillen karminroth, der Grund grau lila.

Die Färbung der Tuberkelbacillen in Schnitten weicht von der der Trockenpräparaten insofern ab, als sie nicht bei höherer Temperatur, sondern bei der des Zimmers oder im Brutschrank stattfindet. Zu beachten ist, dass von der Säurebehandlung leicht Säurereste zurückbleiben, welche mit der Zeit die Färbung der Bacillen verschwinden lassen. Kühne hat deshalb die Entfärbung statt mit Säure mit Malachitgrün ausgeführt.

Färbung in Karbolfuchsin 15 Minuten,
Abspülen in Wasser und Alkohol,
Entfärben in eoneentrirter Lösung von Malaehitgrün in hellem Anilinöl.
Für dünne Stücke genügen 2—3 Minuten.
Abspülen in Anilinöl,
Terpentin, Xylol, Kanada.

Czaplewski benutzt als schonende Entfärbungsflüssigkeit Ebner's Entkalkungsflüssigkeit:

Kochsalz	0,5,
Salzsäure	0,5,
Alkohol	100,0,
Aq. dest.	20.

[1]) Letulle, Technique pour la coloration rapide des baeilles tuberculeux sur les piêces ayant sejourné dans le liquide de Müller. Bulletins de la Societé anatomique de Paris 1892.

Für Darstellung der Kerne (Israel):
Färbung in Böhmer's Hämatoxylin,
Abspülen in destill. Wasser,
Karbolfuchsin bei Zimmertemperatur,
Lugol'sche Lösung verdünnt 1 Minute,
Anilinöl und Anilinöl-Xylol 2 : 1, bis keine Farbwolken mehr abgehen,
Xylol, Xyloldamar.

27. Organismen der Pseudotuberkulose.

Die Stäbchen, welche bei dieser äusserlich mit der echten Tuberkulose sehr ähnlichen Affektion vorkommen, zeichnen sich durch leichte Färbbarkeit in verdünnter wässriger Methylenblaulösung und durch geringes Festhalten der Farbe nach Einwirkung von Säuren aus.

28. Leprabacillus.

Die Organismen sind schlanke feine Stäbchen mit abgerundeten Enden, vielleicht ein wenig kürzer als die Tuberkelbacillen, denen sie zum Verwechseln ähnlich sind. Ihre Anordnung ist jedoch eine andere. Die Tuberkelbacillen finden sich mehr in lockenartiger Gruppirung, wo sie in grösserer Zahl vorkommen, die Leprabacillen wie Cigarren in Bündeln angeordnet in Zellen. Keine Eigenbewegung. Helle Stellen in den Fäden wurden mit Unrecht als Sporen gedeutet.[1])

Der Leprabacillus ist der einzige Organismus, welcher auch auf dieselbe Weise wie der Tuberkelbacillus gefärbt werden kann; unterscheidet sich aber von diesem insofern, als die Färbung leichter und rascher auch schon in einfachen wässrigen Lösungen erfolgt.

Bei Schnitten genügt schon eine halbstündige Färbung mit den Ehrlich'schen Lösungen bei Zimmertemperatur.

Auch in Gram färben sich die Leprabacillen.

Die Leprabacillen finden sich frei im Gewebe, in den Spalten und Lymphbahnen, im Rückenmark und Nerven, in Lymphdrüsen, in der Lunge, den Bauchorganen und Lepraknoten, im Nasensecret, auf der Haut. Das Vorkommen der Bacillen im Innern der Zellen des Lepraknotens wird von Einigen bestritten.

Färbung nach Baumgarten.

1. Färbung 6—7 Minuten lang in verdünnter alkoholischer Fuchsinlösung (5 Tropfen alkoholische Lösung auf ein Uhrschälchen Wasser).
2. Entfärben $^1/_4$ Minute in saurem Alkohol (Salpetersäure 1, Alkohol 10).

---

[1]) Sie treten besonders nach Anwendung der Jod-Pararosanilinmethode von Lutz-Unna hervor. Unna hat deshalb geschlossen, die Leprabacillen beständen aus aneinander gereihten Kügelchen und wären keine eigentlichen Bacillen, daher bezeichnet er diese Form als Kokkothrix, während Andere diese für Artefakte halten. Unna bringt die Schnitte aus Anilinwasserfuchsin in Salpetersäure von 20 %, spült in Wasser ab, trocknet sie über der Flamme und schliesst in Balsam ein.

3. Waschen in Wasser.
4. Nachfärbung in Methylenblau, Abwaschen in Wasser, Alkohol, Oel etc.

Tuberkelbacillen färben in dieser Zeit nicht.

Nach Lustgarten werden die in Anilinwassergentianaviolett oder Anilinwasserfuchsin gefärbten Leprabacillen durch eine 1procentige Lösung von unterchlorigsaurem Natron nicht so leicht entfärbt, wie die Tuberkelbacillen.

Lepra- und Tuberkelbacillen-Färbung nach Unna.[1])

1. Färbung der Schnitte in wässriger Borax-Methylenblaulösung (1:1:100) 5 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Jodirung in 5 % Jodkalilösung mit Zusatz eines Jodkrystalls 5 Minuten.
4. Abspülen in Alkohol abs. bis zur Abgabe einer blauen Wolke.
5. Differenzieren in Kreosol, je nach der Stärke der Färbung einige Sekunden bis $^1/_2$ Minute.
6. Fixiren in Ol. terebinthin. rectif.
7. Balsam.

Bacillen braunroth, Gewebe blau.

29. Diphtheriebacillus.

Der Diphtheriebacillus, welcher neben Kokken und Stäbchen in den diphtheritischen Membranen, aber auch in der Umgebung des eigentlichen Herdes und selbst bei Gesunden und nach Ablauf der Krankheit noch Wochen lang gefunden wird, ist ein unbewegliches, häufig gekrümmtes und an den Enden knotig verdicktes, flaschen- oder leicht keulenförmiges Stäbchen (Involutionsform), etwa von der Länge des Tuberkelbacillus, aber etwas breiter als dieser. Er färbt sich mit alkalischen Farbstofflösungen (Löffler's Methylenblau) und auch mit der Gram'schen Methode bei vorsichtiger Entfärbung (ohne Säure).

Kleine ovale Körnchen im Bacillenleib (metachromatische Körperchen, Neisser) werden durch Behandlung mit essigsaurer Methylenblaulösung und Gegenfärbung mit Bismarckbraun deutlich (bei 9—24 Stunden alten Kulturen, die auf erstarrtem Blutserum bei 35° gezüchtet wurden).

Nach den neuesten Mittheilungen von Kurth[2]) giebt es auch virulente Formen der Diphtheriebacillen, welche Säure bilden, jedoch keine Neisser'schen Körper erkennen lassen.

Neisser's Doppelfärbung.

1. Färbung 1—3 Sekunden in:

Conc. alkohol. Methylenblaulösung	20 Ccm.
Aq. destill.	950 „
Eisessig.	50 „

[1]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII.

[2]) Diagnose des Diphtheriebacillus. Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten. 28. Bd. 1899.

2. Abspülen in Wasser.
3. Färben in Bismarckbraunlösung:

Bismarcklösung . . . . . 2 Ccm.
Kochendes Wasser, dann Filtriren 1000 „

30. Pseudodyphtheriebacillus.

Er kommt in diphtheritischen wie einfachen Belägen der Mund- und Rachenhöhle vor. An 16—24 Stunden alten Kulturen macht Doppelfärbung mit Methylenblau und Bismarckbraun keine metachromatischen Körper deutlich. Für das Meerschweinchen ist er nicht pathogen.

31. Xerosisbacillus.

Er gehört auch zu den falschen Diphtheriebacillen und findet sich auf der Conjunctiva bulbi. Er bildet keine Säure in Bouillon und ist nicht pathogen für Meerschweinchen. Wie es scheint, ist er jedoch keine einheitliche Art. Neisser fand eine Kultur, welche Säure in Bouillon bildete, wie der Bacillus der Diphtherie, und eine andere, welche thierpathogen war. Das Fehlen der metachromatischen Körper scheint nicht constant zu sein. Schanz[1]) fand auch solche in Xerosisbacillen.

32. Der Kommabacillus, Bacillus sive Vibrio der Cholera asiatica.

Dieser Organismus ist ein kurzes plumpes, häufig gekrümmtes Stäbchen mit abgerundeten Enden, einem Geisselfaden an dem einen Pole und lebhafter Eigenbewegung. Die Biegung tritt nicht bei allen Exemplaren gleich deutlich hervor, neben typisch gekrümmten, oft in Haufen beisammenliegenden und zum Theil exquisiten Kommaformen finden sich auch nur leicht gekrümmte, ja selbst gerade Stäbchen. Manche, etwas grössere Exemplare sind S-förmig gekrümmte exquisite Spirillenformen, die mitunter lange Verbände bilden (Involutionsformen). Kürzere derartige Verbände werden auch neben den typischen Kommas im Darminhalt gefunden, längere Verbände bilden sich im hängenden Tropfen, in den Dejektionen bei längerem Stehen nach 1—2 Tagen und verdanken ihre Entstehung der verlangsamten Spaltung der einzelnen Zellen in Folge ungünstiger Vegetationsbedingungen.

Das Plasma der einzelnen Zellen zeigt oft eine Unterbrechung durch eine scharf umschriebene lichte Stelle, deren Sporennatur jedoch nicht erwiesen ist, da bis jetzt jeder Versuch, sie wie Sporen zu färben, missglückte[2]).

Die Kommabacillen finden sich in den grauen Schleimflocken des unteren Dünndarms vereinzelt, wie in Zügen angeordnet in den Dejek-

---

[1]) Münchener med. Wochenschrift. No. 11. 1896.
[2]) Hüppe beschrieb von Kommabacillen, die er im hängenden Tropfen untersuchte, Arthrosporenbildung.

tionen (in seltenen Fällen noch am achtzehnten Tage nach der Erkrankung, Simmonds.)[1])

Auch in der Darmschleimhaut werden Cholerabacillen angetroffen und Deycke fand sie einmal massenhaft in der Magenmucosa neben Streptococcen.

Fig. 80.
Choleravibrio mit Geissel. Agarkultur 24 Stunden alt. Deckglastrockenpräparat, nach Löffler's Methode gefärbt. Vergrösserung 1000 : 1.

Die Nekrosen im Darm und den weiblichen Geschlechtsorganen scheinen weniger durch den Kommabacillus als durch andere Organismen, Streptococcen und zarte Stäbchen veranlasst (Deycke). Vereinzelt fand die Kommas de la Croix in dem schleimigen fadenziehenden Belag der Darmserosa und L. Rekowski[2]) konnte sie durch das Kulturverfahren constant in der Galle und mitunter auch in verschiedenen Organen nachweisen. Die Kommabacillen färben sich gut in verschiedenen wässrigen Anilinfarben, besonders in der Wärme. Man betropft das 3mal durch die Flamme gezogene Deckglas mit der Farblösung und lässt diese 5—10 Minuten einwirken oder erwärmt wiederholt einige Minuten, bis Dämpfe aufsteigen. Etwas verdünnte Karbolfuchsin- (Ziehl'sche) Lösung mit der 4fachen Menge Wasser

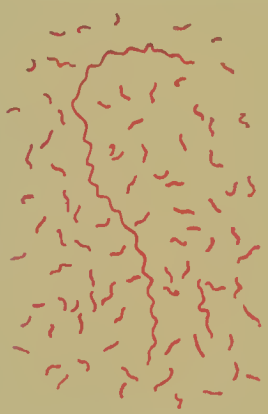

Fig. 81.
Choleravibrio aus Bouillonkulturen, 2 Tage alt, mit Involutionsform. Deckglastrockenpräparat, gefärbt mit Fuchsin. Vergrösserung 1000 : 1.

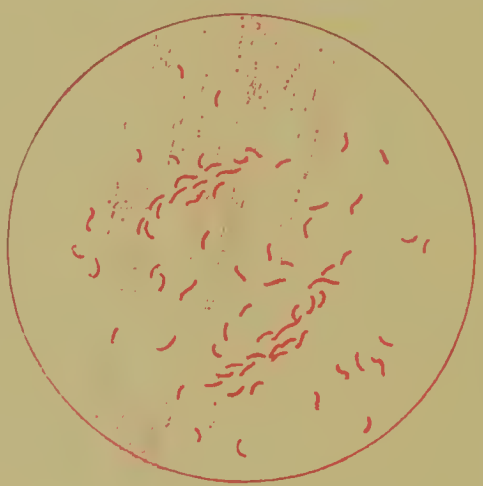

Fig. 82.
Choleravibrio aus dem Darminhalt eines an Cholera verstorbenen Menschen. Deckglastrockenpräparat mit Fuchsin, 1000 : 1.

verdünnt, wie dies auch bei der Lösung von Davalos der Fall, ist am geeignetsten.

---

[1]) Frühestens sind die Komma aus den Dejektionen am fünften Tage nach der Erkrankung verschwunden (Guttmann).

[2]) Sur les microorganismes dans les organes de morts choleriques. Archives des Sciences biologiques publiées par l'institut impérial de medécine expérimentale de St. Petersbourg. Tom. I. 4. 1892.

Verdünnte Ziehl'sche Lösung.

Fuchsin . . . 0,25,
Karbolsäure . . 1,25,
Alkohol . . . 2,5
Aq. destill. . . 100.

Nach dem Gram'schen Verfahren färbt sich der Kommabacillus nicht. Für Schnitte: Färbung in Fuchsinlösung oder Methylenblau.

Für den Nachweis von Cholerabacillen ist das Kulturverfahren gleichzeitig anzuwenden, insbesondere wo dieselben in geringer Zahl vorhanden sind. In verdünnter mit 6—10 Theilen Wasser versetzter Fleischbrühe, welche mit Flöckchen des Cholerastuhls geimpft wurde, gedeihen die Cholerabacillen sehr üppig. Die Flüssigkeit trübt sich sehr wenig, aber bei Körpertemperatur sammeln sich die Bacillen an der Oberfläche der Nährbouillon nach 12—24 Stunden an und bilden oft ein dünnes, später vielfach gefaltetes Häutchen.

Oder man versetzt $^1/_3$ Choleradejektionen mit $^2/_3$ alkalischer Bouillon.

Nach 6—12 Stunden ist bei 37° an der Oberfläche bereits ein Häutchen vorhanden, welches die Cholerabacillen fast nur in Reinkultur enthält (Schottelius).

Auch in alkalischer Peptonlösung gedeihen die Kommas bei Blutwärme sehr üppig.

Pepton 1,
Kochsalz . . . . . $^1/_2$—1,
Wasser 100,
Sterilisiren, Zugabe von etwas Natron.

33. Der Kommabacillus von Finkler und Prior[1]).

In einer 14 Tage alten Dejektion eines an Brechdurchfall erkrankten Menschen und den frischen Dejektionen von Cholera nostras fanden Finkler und Prior einen Bacillus, welcher in einigen Beziehungen dem Cholerabacillus gleicht, aber grösser und plumper ist als der Koch'sche Bacillus. Er entwickelt sich seltener zu so langen Spirillen wie der vorhin genannte.

Die einzige Ursache der Cholera nostras scheint der Finkler-Prior'sche Bacillus nicht zu sein. Wenigstens wurde er neuerdings in Fällen von Cholera nostras vermisst.

34. Spirillum des Rekurrensfiebers.

Das zarte, lebhaft sich bewegende Schraubenbacterium findet sich während der einzelnen Fieberanfälle nur im Blut. Naunyn fand es einmal während 2 Wochen täglich.

---

[1]) Tageblatt d. 58. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte. Strassburg. 1885, — p. 438—440. Ergänzungsheft z. Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege. Bd. I. 1885, p. 279.

Rekurrensspirillen ertragen stärkeres Erwärmen schlecht und werden darum besser angetrocknet in Alkohol-Aether fixirt und dann mit den gewöhnlichen, wässrigen Anilinfarben gefärbt. Mit der Gram'schen Methode wird der Organismus entfärbt.

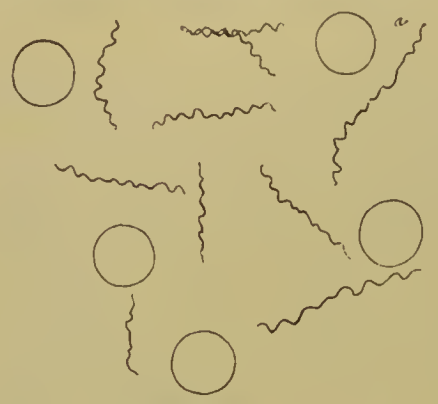

Fig. 83.
Rekurrensspirillen. Blut des Menschen. Deckglastrockenpräparat gefärbt mit Fuchsin. 1000 : 1.

Um die Spirillen im Blutpräparat besser hervortreten zu lassen, hat Günther die Blutkörper entfärbt.

1. Fixiren des Deckglaspräparates durch 3maliges Durchziehen durch die Flamme oder 5 Minuten langes Erwärmen im Thermostaten bei 75 °.
2. 10 Sekunden langes Abspülen in 1—5procentiger Essigsäure, wodurch ein grosser Theil des Plasma wieder vom Deckglas abgewaschen und das Hämoglobin ausgezogen wird.
3. Man bringt die Essigsäure zum Verdunsten, indem man wiederholt einen Luftstrom auf dieselbe leitet, oder indem man das Deckglas mit der beschickten Seite nach unten einige Sekunden Dämpfen starken Ammoniaks aussetzt.
4. Färben in wässrigen Anilinfarbenlösungen.
5. Abspülen in Wasser, Trocknen, Kanadabalsam.

35. Aktinomyces-Pilz.

Für die Untersuchung des frischen Materials empfiehlt es sich, eine Portion des mit Kochsalz oder Wasser verdünnten Eiters in eine schwarze Schale zu giessen. Mit Pinsel oder Spatel nimmt man die grossen gallertigen oder gelben Aktinomycesklümpchen heraus und untersucht sie entweder in Kochsalz oder nach Zusatz verdünnter Kalilauge.

Für Trockenpräparate werden die gelben Aktinomycesklümpchen oder der verdünnte Eiter auf Deckgläschen ausgebreitet, an der Luft getrocknet und durch die Flamme gezogen.[1]) Hierauf Färbung.

Vorfärbung mit Pikrokarmin einige Minuten und 24 Stunden lange Färbung des Aktinomyces nach der Gram'schen oder Gram-Günther'schen Methode giebt sehr schöne scharfe Bilder, ebenso die Färbung nach Weigert. Weniger scharf sind die Färbungen mit Hämatoxylin und Eosin oder Karmin oder nach van Gieson.

Für Schnitte (Celloidineinbettung) Gram'sche oder Weigert'sche Färbung mit Vorfärbung von Saffranin oder Lithionkarmin.

Das letzte Verfahren, wobei die Alkoholbehandlung, welche das Celloidin löst, durch Anilinöl ersetzt ist, wodurch ein Ausfallen der Drusen

[1]) Baranski, A. Zur Färbung des Aktinomyces. Deutsche med. Wochenschrift. 1887. No. 49. Z. f. wissensch. Mikrosk. 5. Bd. 1888. S. 402.

vermieden ist, dürfte sich insbesondere für weichere Gewebsmassen und Eiter empfehlen.

I. Für Deckglastrockenpräparate.

1. Nach Fixiren in der Flamme Färben 24 Stunden in Anilinwassersafranin.
2. Kurzes Abspülen in Wasser.
3. Färben 5 Minuten lang in gesättigter Anilinwassergentianaviolettlösung.
4. Rasches Abspülen in 0,6procentiger Kochsalzlösung.
5. Trocknen zwischen Fliesspapier.
6. Uebertragen des Deckglases in Jodjodkalilösung 1 : 2 : 300.
7. Trocknen zwischen Fliesspapier.
8. Entfärben in öfter gewechseltem Anilinöl, bis keine Farbe mehr abgeht.
9. Xylol, Kanada.

Die Rasen sind blau, die Kolben braunroth.

II. Für Schnitte.

1. Färben 24—48 Stunden in Anilinwassersaffranin.
2. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.
3. Färben $^1/_2$—1 Minute in Hämatoxylin.
4. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.
5. Färben $^1/_2$—3 Stunden in gesättigter Anilinwassergentianaviolettlösung.
6. Abspülen in 0,6procentiger Kochsalzlösung.
7. Uebertragen auf 2—5 Minuten in Jodjodkalilösung 1 : 2 : 300.
8. Trocknen auf dem Spatel mit Fliesspapier.
9. Entfärben in Anilinöl, bis keine Farbe mehr abgeht.
10. Färben in Anilinöleosin $^1/_2$ Stunde.
11. Xylol, Kanada.

Rasen dunkelblau, Kolben braunroth, Zellkerne violett, Protoplasma rosa.

Verfahren von Boström.

1. Färbung in Anilinwassergentianaviolett.
2. Uebertragen ohne Abwaschen in Weigert's Pikrokarmin.
3. Gründliches Auswaschen in Wasser.
4. Alkohol, bis die Schnitte rothgelb sind.

Die Aktinomycesfäden erscheinen blau, die Keulen roth und das Gewebe gelbroth.

Weigert's Färbung mit Orseille.

1. Färbung 1 Stunde lang in dunkelrother Lösung von Orseille in:

Alkohol absol. . .	20,0,
Acid. aceticc. . . .	5,0,
Aq. destill. . . .	40,0.

2. Waschen in Alkohol.
3. Färbung in 1procentiger wässriger Gentianaviolettlösung.
4. Waschen in Alkohol.
5. Kanadabalsam.

Die Zellkerne erscheinen blauviolett, das Bindegewebe orange, die centralen Partieen der Aktinomycesdrusen blau, die Aussenpartieen rubinroth.

Die käufliche Orscille muss einige Tage an der Luft stehen, um das Ammoniak zu verdampfen, bevor man sie löst.

Israel's Verfahren.

1. Färben der Schnitte mehrere Stunden lang in einer concentrirter Lösung von Orcein in essigsaurem Wasser.

Die Aktinomycceskolben färben sich burgunderroth.

Baranski's Verfahren.

1. Färben der Deckgläschen oder Schnitte 2—3 Minuten in Pikrokarmin.
2. Rasches Auswaschen in Wasser.
3. Trocknen resp. Entwässern in Alkohol.
4. Kanadabalsam.

Das Gewebe erscheint roth, das Centrum der Strahlenpilze gelb, die Kolben schwach gelb.

Flormann's Färbung ist eine Modifikation der durch Kühne modificirten Gram'schen Färbung.

1. 5 Minuten Färben in
   concentrirter alkoholischer Methylviolettlösung . . . 1 Theil,
   Wasser . . . . . 2 Theile,
   1procentige wässrige Lösung von kohlensaurem Ammoniak . . . . . 2 Theile.
2. 10 Minuten langes Auswaschen in Wasser.
3. Uebertragen in Jodjodkaliumlösung (1 : 2 : 300) für 5 Minuten.
4. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.
5. Entfärben 20 Minuten lang in einmal zu wechselndem Fluoresceinalkohol 1 : 50.
6. Auswaschen des Fluoresceins in 95procentigem Alkohol.
7. Uebertragen in Anilinöl auf einige Minuten.
8. Lavendelöl.
9. Xylol, Kanadabalsam.

Die Fäden erscheinen dunkelblau, die Kolben theils hellblau, theils ungefärbt.

Aktinomyces findet sich in Abscessen, neben Eiter in fibrösen Wucherungen (Rind) und in myxomatösen Knoten (Mensch, Gehirn), im Sputum bei Lungenaktinomykose, im Harn nach Durchbruch von Aktinomyces der Bauchhöhle in die Blase.

36. Leptothrix buccalis.

Unter diesem gemeinsamen Namen wurden früher die meisten der in der Mundhöhle vorkommenden Organismen zusammengefasst. Miller unterscheidet von diesen fadenförmigen Organismen, welche den weissen weichen Zahnbelag bilden, 4 Formen:

1. Bacillus maximus buccalis, färbt sich in Jodjodkalium blau,
2. Leptothrix innominata,
3. Leptothrix maxima buccalis,
4. Jodococcus vaginatus,

} welche durch Jod nur gelb gefärbt werden.

Färbung mit den gewöhnlichen Anilinfarben, Karbolfuchsin, Gentiana etc.

4. Kapitel.

Untersuchung von Spross- (Hefe-) und Schimmelpilzen.

Die Methoden sind im Ganzen die gleichen wie bei den Spaltpilzen. Wir untersuchen frisch die betreffenden Organismen in den Flüssigkeiten, in welchen sie sich finden, unter Umständen verdünnen wir diese mit physiologischer Kochsalzlösung oder Wasser. In diesen isoliren wir auch durch Zerzupfen die betreffenden Organismen aus den Geweben. Erleichtert wird ihre Gewinnung durch kurze Behandlung der Gewebsstücke mit dünner Kali- oder Natronlauge (2—3 %) oder mit 32procentiger Kalilauge (s. Maceriren).

Haftet den Fadenpilzen zu viel Luft an und benetzen sie sich schwer mit Wasser, verwendet man 50procentigen Alkohol mit einigen Tropfen Ammoniak.

Zur Conservirung der Präparate dient Glycerin.

Eine Universalfarbe für die genannten Pilze ist Löffler's Methylenblau, welches mitunter sogar die Sporen färbt.

Der Soorpilz färbt sich gut nach Gram mit Methylviolett. Für Schnitte Vorfärbung in Pikrokarmin.

Aspergillus färbt sich mit Methylviolett, Fuchsin und Vesuvin, die Hefearten, welche sich mit den obigen Farben leicht überfärben, werden am besten in dünner Lösung von Bismarckbraun oder Karbolfuchsin gefärbt.

Bosse[1]) empfiehlt für Färbung der Hefezellen:

1. Färbung in Hämatoxylinalaun 15 Minuten, in verdünnten Lösungen länger.
2. Abspülen in Wasser.
3. Färben in verdünntem Karbolfuchsin (1 Theil Ziehl'sche Lösung, 20 Theile Aq. destill.) 30 Minuten bis 24 Stunden.
4. Entfärben 15 Sekunden bis 1 Minute in 95procentigem, dann absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Für Detailuntersuchung nach Alkohol (4) Wasser, Einschluss in Lävulose.

Für Detailuntersuchung empfiehlt Curtis Vorfärben in Lithionkarmin und Nachfärben in Methylviolett.

1. Färben mit gesättigter alkoholischer Lösung von Methylviolett 1,0 und wässriger Kalilauge 1 : 10000.
2. Entfärben 1 Minute in 1procentiger Lösung von Pyrogallussäure.
3. Alkohol 15 Sekunden.
4. Abspülen in Wasser.
5. Einlegen in Zucker oder Glyceringelatine.

Die Kapseln färben sich schwach, die Hefezellen intensiv blau.

---

[1]) Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin 1897.

5. Kapitel.

Untersuchung thierischer Parasiten.

Von den Untersuchungsmethoden auf thierische Parasiten seien hier nur einige der wichtigsten erwähnt.

Handelt es sich um den Nachweis von Parasiten in Flüssigkeiten (Haken von Echinococcen, Distomeneier im Harn), wird man zunächst das Sedimentirungsverfahren einschlagen. Eier der verschiedenen Darmparasiten werden erhalten, wenn man die verdünnten Faeces in dünner Schicht auf dem Objektträger ausbreitet.

Echinococcenblasen werden an der lamellösen Struktur ihrer Wand erkannt. Sie ist so charakteristisch, dass sie nicht leicht mit etwas Anderem verwechselt werden kann.

Die Blasen von Cysticerken und Glieder von Bandwürmern sind an den eingelagerten, geschichteten Kalkkörperchen zu erkennen.

Trichinen werden aus frischen Muskeln durch Zerzupfen gewonnen. Man nimmt am besten Stückchen der Zwerchfell- oder Kiefermuskulatur aus der Nähe der Sehne und untersucht bei schwacher Vergrösserung. Von conservirtem Fleisch (Schinken) werden nicht zu dünne Längsschnitte auf Trichinen untersucht.

Infusorien und Amöben färben sich mit Anilinfarben.

Coccidien werden in Schnittpräparaten mit Gentianaviolett, Methylenblau, Vesuvin, Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

Für Protozoen und zwar für lebende Färbung 1—2 Tage in der Zusatzflüssigkeit mit 1 : 20000—100000 Methylviolett.

Für Schnittfärbung von Amöba coli (Mallory):

1. Härtung in Alkohol.
2. Färben 5—20 Minuten in gesättigter, wässriger Thioninlösung.
3. Auswaschen in Wasser.
4. Differenziren $^1/_2$—1 Minute in 2procentiger wässriger Oxalsäurelösung.
5. Auswaschen in Wasser.
6. Entwässern in 95procentigem Spiritus.
7. Aufhellen in Origanum- oder Bergamottöl.
8. Auswaschen in Xylol.
9. Xylolkanada.

Kerne der Amöben roth, der übrigen Elemente blau.

Malariaplasmodien.[1])

Für die Untersuchung des frischen Blutes wird ein kleiner Blutstropfen unter Deckglas nach den gebräuchlichen Methoden der Blutuntersuchung (siehe Blut) ausgebreitet und letzteres mit Vaselin umrandet.

---

[1]) Siehe Dr. Jul. Mannaberg, Die Malariaparasiten. Wien 1893, bei Alf. Hölder.

Auch der von Hayem angegebene Objektträger mit einer durch eine Rinne abgegrenzten runden Scheibe, wodurch die rasche Verdunstung verhütet und eine längere Beobachtung ermöglicht wird, ist sehr geeignet. Um die Bewegung der Malariaplasmodien länger zu verfolgen, ist die Anwendung des heizbaren Objekttisches unerlässlich.

Um Gerinnung zu vermeiden oder zu beschränken, wird die zur Blutentnahme bestimmte, gereinigte Hautstelle mit reiner Vaseline bestrichen und Deck- wie Objektglas mit einem Tropfen flüssigen Paraffins beschickt, um die Berührung des Blutes mit dem Glase zu verhüten.

Mannaberg gelang es durch Benützung eines hohlen Objektträgers, der zugleich eine feuchte wie eine Sauerstoffkammer darstellt, unter Benützung einer constanten Temperatur länger als sonst Malariaplasmodien lebend zu erhalten.

Zur Fixation des feuchten Präparats mischt Laveran auf dem Objektträger ein Tröpfchen Blut mit einer Lösung von Osmiumsäure 1 : 300, deckt mit Deckgläschen zu und lässt Glycerin, dem etwas Pikrokarmin beigefügt ist, zufliessen. Die Malariaparasiten färben sich blassrosa, die Leukocytenkerne gesättigt roth.

Celli und Guarnieri färbten die Parasiten lebend, indem sie einen Tropfen steriler Ascitesflüssigkeit, in der Methylenblau gelöst war, auf die für die Blutentnahme[1]) gewählte Stelle brachten und durch die Farbflüssigkeit den Stich ausführten, wodurch sofort das Blut mit der Farbflüssigkeit in Berührung kam. Das Gemisch von Blut und Farbstoff kommt zwischen Objektträger und Deckglas und wird nun sogleich oder nachdem es einige Stunden, um eine vollkommene Durchfärbung zu erzielen, in der feuchten Kammer gelegen war, untersucht. Dieses Verfahren liefert keine Dauerpräparate, und die Färbung ist mangelhaft. Da die Untersuchung des frischen Blutes mühsam, ist das nach Ehrlich's Angabe hergestellte Trockenpräparat vorzuziehen.

Färbung des Trockenpräparates.

Zur Färbung dient Hämatoxylin, nach Fixirung mit Pikrinsäure nach Mannaberg.

Das Bluttrockenpräparat lässt man zuerst 5 Minuten auf destillirtem Wasser schwimmen, trocknet es zwischen Fliesspapier und zieht es zur vollständigen Entfernung des Hämoglobin mehrmals durch eine verdünnte Essigsäure (1 Tropfen Essigsäure auf 20 ccm destill. Wasser). Hierauf wird das ganz farblose Präparat 2 Stunden auf die Fixirflüssigkeit gelegt.

Concentrirte wässrige Pikrinsäurelösung . .	30,
Aq. destill.	30,
Eisessig	1.

Aus dieser kommt es auf 2 Stunden in Alkohol absol.

[1]) Siehe Blut.

Hierauf wird 12—24 Stunden in alter Hämatoxylinlösung[1]) gefärbt, in 0,25procentigem Salzsäurealkohol (Alkohol von 75 %) und Ammoniakalkohol 3 Tropfen Ammoniak auf 10 ccm 75procentigen Alkohol) differenzirt, in 80procentigem Alkohol ausgewaschen und in Xylolkanada eingeschlossen.

Durch das Waschen der Präparate in Wasser und Essigsäure werden die Eiweisskörper entfernt, welche bei der nachfolgenden Pikrinessigsäurelösung störende Niederschläge geben würden.

Die Parasiten wie die Leukocyten erscheinen blau, die rothen Blutkörperchen farblos. Die Strukturverhältnisse der Parasiten treten scharf hervor.

Bequem und sehr geeignet ist die Färbung der trocken in der Hitze fixirten Blutpräparate in Methylenblau und Eosin oder in einem Gemisch beider.

Die mit der angetrockneten Blutschicht versehenen Deckgläschen kommen auf $^1/_2$ Stunde in eine Mischung von Alkohol-Aether zu gleichen Theilen; nachdem man sie zwischen Fliesspapier abgetrocknet, lässt man sie auf einer halbconcentrirten wässrigen Methylenblaulösung durch $^1/_2$ Stunde schwimmen, wäscht mit Wasser ab, trocknet auf Papier und färbt mit einer 2procentigen Eosinlösung in Alkohol von 60 % $^1/_2$ Stunde, wäscht in Wasser, trocknet und conservirt in Kanada.

Die Leukocyten und Parasiten werden blau gefärbt, die rothen Blutkörper und die eosinophilen Körnchen roth.

Färbung der Malariaplasmodien nach Plehn.[2])

Gleichzeitige Färbung.

Das Blut wird durch ein dünnes Glimmerplättchen auf dem Deckglas verstrichen, durch 3—5 Minuten lange Alkoholbehandlung fixirt und 5—6 Minuten in dem Gemisch aus Methylenblau und Eosin gefärbt.

Methylenblau, concentrirte wässrige Lösung	60,
Eosin, $^1/_2$—1procentige Lösung in 75procentigem Alkohol	20,
Destillirtes Wasser	20.
Kalilauge, 20procentige	12 Tropfen.

15—20 Stunden langes Verweilen der Präparate in der Farblösung bei 30° C. befördert die Färbung. Die rothen Blutkörper erscheinen roth, die Plasmodien blau.

Korolko empfiehlt zur Färbung ein Gemisch aus einer nach 3monatlichem Stehen filtrirten Lösung aus Methylenblau und Eosin.

Methylenblau	2—3 ccm,
1procentige Eosinlösung . . .	3—5 ccm.

Umrühren. Blutpräparate werden 1 Stunde lang auf 105—110 erhitzt und 15—20 Stunden bei einer Temperatur von 30 C. gefärbt. Die Kerne der Lymphocyten erscheinen dunkelviolett, die Blutplättchen etwas heller, der chromatische Theil der Plasmodienkerne blau, das Ektoplasma hellblau.

---

[1]) Hämatoxylin krystall. . . . . 10 gr,
Absolut. Alkohol . . . . . 100 gr.
Von dieser Lösung wird vor dem Gebrauche 1 Theil mit 2 Theilen einer $^1/_2$procentigen Ammoniakalaunlösung gemengt.

[2]) Plehn, F., Aetiologische und klinische Malaria-Studien. Berlin (Hirschwald). 1890.

In den rothen Blutkörpern finden sich die Plasmodien als kleine amöbenartige Körper, als grosse, pigmenthaltige Plasmodien, welche das Blutkörperchen ganz einnehmen, als sporulirende, sog. Margaritenformen, als Halbmonde (Sicheln oder Laveran'sche Körper), die auch zum grossen Theil frei angetroffen werden.

Die Methylenblaufärbung versagt mitunter selbst nach Alkalizusatz. Gautier[1]) fand am geeignetsten die Methylenblaumarken C und BGN der Badischen Soda-Anilinfabrik.

Von Eosinfarben erwiesen sich am geeignetsten die Marke Eosin A der oben genannten Fabrik und Eosin Gelb. kryst. der Aktiengesellschaft Berlin.

Das Plasma der Plasmodien färbt sich hellblau. Der bläschenartige, nur in gewissen Entwickelungsstadien auftretende Kerntheil bleibt ungefärbt. Der chromatinhaltige Theil des Kerns, der bald als kompakter Körper, bald in Fadenform oder als eine körnige Masse auftritt, färbt sich rothviolett. Nur die älteren Formen enthalten in ihrem Plasma Pigment.

Für Schnittpräparate empfiehlt Bignami:[2])

1. $^1/_2$—mehrere Stunden lange Fixation der Gewebe in saurer Sublimatlösung:

Sublimat	1,
Wasser	100,
Chlornatrium	0,75,
Essigsäure	0,5—1.

2. Uebertragung in Alkohol mit etwas Jod.
3. Alkohol absol.
4. Färbung.

Zur Färbung Magentaroth, Vesuvin, Safranin, Methylenblau in gesättigter wässriger oder alkoholischer Lösung 5 Minuten lang uud dann Auswasehen in Alkohol absol.

Die Halbmondformen färben sich weniger intensiv als die Plasmodien, sie werden bei Färbung mit Magenta blassroth, die durch Sporulation entstandenen Körperchen violettroth.

Für Milz und Knochenmark Doppelfärbung in Magentaroth und Aurantia in gesättigter alkoholischer Lösung. Die Plasmodien erscheinen lebhaft roth und die rothen Blutkörper blass goldgelb.

5 % Phenylsäure zu der Lösung des Magenta erhöht deren Wirkung.

---

[1]) Gautier, Zeitschrift für Hygiene. Bd. 28. 1898.
[2]) Bemerkung über die Technik der Präparirung der Gewebe zum Studium der Malaria. Centralblatt für Pathologie. No. 22. 1891.

6. Kapitel.

Bindesubstanzen.[1])

Das Bindegewebe wird in physiologischer Kochsalzlösung, oder ohne irgend einen Zusatz (Schleimgewebe, ödematöses Gewebe), in Zupfpräparaten, kleinen mit Scheere oder Messer entnommenen Stücken, oder an ausgebreiteten Membranen untersucht.

Schon verdünnte Essigsäure bringt die Grundsubstanz zum Quellen und macht dadurch die Zellen deutlicher. Bei zu starker Quellung der Grundsubstanz werden die Zellen deformirt.

Für die Reaction auf Schleim bei myxomatösem Gewebe genügt der Zusatz von dünner Essigsäure. Bei Zusatz concentrirter Essigsäure ziehen sich die fadenförmigen Mucinniederschläge immer mehr zusammen.

Oedematöses Bindegewebe untersucht man am besten frisch, indem man kleine Stücke auf dem Objektträger rasch ausbreitet. Beim Conserviren ödematösen Gewebes, z. B. Unterhautgewebe des Hodens, geht ein grosser Theil der Oedemflüssigkeit verloren. Das ist auch der Fall, wenn man durch Kochen die Flüssigkeit in den Bindegewebsmaschen fixiren will. Nur da, wo durch die Gewebsstruktur die Flüssigkeit nicht so leicht entweichen kann, wie z. B. in der Lunge, liefert Kochen während einiger Minuten sehr gute Präparate. Zum Härten dient Müller'sche Flüssigkeit, zum Fixiren Chromsäure, Flemming'sche Lösung, Sublimat, Alkohol, Formol, Goldchlorid, zum Färben Karmin-Hämatoxylin, Pikrokarmin, Hämatoxylin oder Hämotoxylin-Eosin, van Gieson'sche Färbung.

Für den Nachweis des Endothels wird Silbersalpeter, Goldchlorid. Zenker'sche und Flemming's Lösung gebraucht.

Fettgewebe wird frisch oder nach Fixirung in 1procentiger Osmiumsäure oder Flemming'scher Lösung, Härtung in Müller'scher Flüssigkeit, untersucht. Das Fett wird durch die Osmiumsäure geschwärzt. Für Paraffineinbettung wird nach dem Entwässern chloroformirt, da Terpentin und Xylol das osmirte Fett zum Theil lösen. Alkohol löst das Fett und ist darum für den Nachweis des Fettes zu vermeiden.

Färbung des kollagenen Bindegewebes nach Unna:[2])

I. 1. Alkoholhärtung, Färbung in 2procentiger wässriger Säurefuchsinlösung 5 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Uebertragen in eine gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung 1 Minute.
4. Gesättigte alkoholische Lösung von Pikrinsäure 2 Minuten.
5. Abspülen in Alkohol absol., Oel, Kanada.

Kollagen roth, Kollastin, Elastin und Protoplasma gelb, Kollacin-Elacin gelb.

---

[1]) Ueber das Bindegewebe der einzelnen Systeme und Organe siehe diese und Entartung.

[2]) Monatsheft für praktische Dermatologie. XIX. Bd. 1894.

II. 1. Färben in 1procentiger wässriger Lösung von Wasserblau 20 Sekunden.
2. Abspülen in Wasser.
3. Färben in neutraler wässriger Saffraninlösung 5 Minuten.
4. Abspülen in Wasser, Alkohol abs. Bergamottöl, Kanada.

Die kollagene Substanz erscheint himmelblau, Protoplasma violett, Kerne roth, Hornschicht dunkelroth.

Ribbert erzielt in Schnitten alkoholgehärteter Präparate eine scharfe Färbung der Bindegewebsfibrillen durch Mallory's Verfahren.

1. Phosphormolybdänsäure 10procentig 10 Theile,
2. Hämatoxylin . . . . . 1,75 „
3. Wasser . . . . . 200 „
4. Acid. carbol. kryst. . . . . 5 „

Färben bis 5 Minuten. Waschen etc.

Das elastische Gewebe ist leicht kenntlich an dem geschlängelten Verlauf der Fasern und deren dunklen Conturen. Durch Aufhellen des Bindegewebes in verdünnter Essigsäure von 1% oder dünner Kali- oder Natronlauge werden die elastischen Fasern deutlich.

Färbung der elastischen Fasern.

Diese lassen sich durch die Saffraninmethode, wie sie zur Kernfärbung gebraucht wird, darstellen.

Neben den ziemlich zahlreichen anderen Verfahren für diesen Zweck scheint die von Unna empfohlene und modificirte Tänzer'sche Orcëinmethode den ersten Rang einzunehmen.

Härtung in Alkohol, Sublimat, Müller'scher Flüssigkeit oder Flemming'scher Lösung. Man stellt sich zwei Lösungen her, die eine aus:

Orcëin . . . 0,1,
Alkohol (95 %) 20,
Aq. destill. . . 5,

und eine Säuremischung aus:

Acid. muriatic. conc. 0,1,
Alkohol (95 %) . . 20,
Aq. destill. . . . 5.

Erstere Flüssigkeit wird auf verschiedene (6 bis 10) Schälchen vertheilt und von der zweiten Flüssigkeit zu jener tropfenweise halb so viel oder $1^1/_2$ Mal so viel zugegossen. Die Schälchen werden zugedeckt. Die elastischen Fasern sollen dunkelbraun sein. Man verwendet das Schälchen, in welchem die Färbung am besten gerathen ist.

Meissner's Verfahren.

Färbung in Orcëin . . 0,5,
Alkohol abs. 40,0,
Aq. destill. 20,
Acid. mur. gutt. . . . 20,
Entfärben in Acid. mur. 0,1,
95procentigem Alkohol. . 20,
Aq. dest. . . . . 5.

Formalinhärtung beeinträchtigt die Färbung.

In Celloidin eingebettete Haut nimmt in Orcëin eine ungenügende Färbung ihrer elastischen Fasern an.[1])

Die Schnitte von Paraffinpräparaten bleiben 3—5 Tage in der ersten Lösung und werden dann in der Säuremischung entfärbt. Der Grad der Entfärbung wird von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop controllirt. Entwässern in Alkohol, kurzes Verweilen in Nelkenöl, Kanadabalsam.

Modifikation der Unna-Tänzer'schen Methode:

Färben 10—15 Minuten bei 30 ° in

Orcëin	1,0,
Acid. hydrochloric .	1,0,
Alkohol abs. . . .	100

in so viel Farbflüssigkeit, dass die Schnitte gerade bedeckt bleiben. Durch leichtes Erwärmen auf 35 ° wird die Flüssigkeit etwas eingedickt. Darauf Abspülen in verdünntem Alkohol, Wasser, Alkohol absol., Oel, Balsam. Um den Grund ganz zu entfärben, kommen die Schnitte aus dem verdünnten Alkohol für einige Sekunden in Salzsäurespiritus und dann in Wasser.

Eine andere Methode von Unna ist folgende:

1. Härtung in Alkohol oder Flemming'scher Lösung mit Nachhärtung in Alkohol absol.
2. Vorfärbung (eventuell) in Vesuvin.
3. Auswaschen.
4. Färbung 24 Stunden lang in:

Fuchsin		0,5,
Aq. destill. } Alkohol }	ana	25,0,
Acid. nitric. (25 %)		10,

5. 2—3 Sekunden langes Verweilen in 25 procentiger Salpetersäure.
6. Entfärben in schwachem Essigwasser.
7. Schnelle Entwässerung in Alkohol absol., Cedernöl, Kanadabalsam.

Herxheimer's Verfahren.

1. Härtung am besten in Müller'scher Flüssigkeit, ferner in Alkohol, Pikrinsäure und Flemming's Gemisch.
2. 3 Minuten lange Färbung der Schnitte in:

Hämatoxylin	1,0,
Alkohol absol.	20,0,
Wasser	20,0,
Kalt gesättigte Lösung von Lithion carb. .	1,0.

3. Ausziehen 5—20 Sekunden lang in officineller Lösung von Eisenchlorid.
4. Abspülen in Wasser. Alkohol, Oel, Kanadabalsam.

---

[1]) Bei zu dunkler Färbung des Celloidins kommen die Schnitte aus dem Salzsäurespiritus in ein Schälchen mit Wasser und etwas Liquor Ammonii caustic. Die Schnitte werden blau und geben etwas Farbstoff ab. Hierauf werden sie wieder in den Salzsäurespiritus gebracht.

Die elastischen Fasern färben sich blauschwarz, das übrigo Gewebe hellblau. Nachfärbung in Bismarckbraun.

Bei Härtung in Flemming's Gemisch, Pikrinsäure, absol. Alkohol geht die Entfärbung nicht so gut wie bei Präparaten in Müller'scher Flüssigkeit.

Ein modificirtes Verfahren von Herxheimer besteht in Färbung der in Alkohol und Aether ihres Celloidins beraubten Schnitte $^1/_2$ Stunde auf dem Objektträger in Anilinwasserviolett, Abtrocknen und $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde Entfärbung mit wiederholt aufgetropftem und aufs Neue zugefügtem Menthol-Vasogen (Pierson-Hamburg), bis ein hellblauer Ton zurückbleibt.

Manchot's Verfahren.

1. Härtung in Alkohol oder Müller'scher Flüssigkeit.
2. Färbung der Schnitte $^1/_2$ Minute lang in concentrirter wässriger Fuchsinlösung.
3. Abspülen in Wasser.
4. Entfärben 1—12 Stunden in wässriger Zuckerlösung von Glycerinkonsistenz, die auf je 10 ccm 3—4 Tropfen gewöhnlicher Schwefelsäure enthält.
5. Einschliessen in nicht gesäuerter Zuckerlösung.

Celloidin ist vor der Färbung aus den Schnitten zu entfernen.

Martinotti's Silberverfahren.[1])

Frische Stücke von 2—3 ccm kommen auf 24 Stunden in eine 2procentige Lösung von Arsensäure oder bei Periost in eine solche Lösung von 4 %, welche auf 50 C. erwärmt wird.

Aus der Arsensäure werden die Stücke auf 5—15 Minuten in Müller'sche Flüssigkeit gebracht und dann auf 24—48 Stunden in die Glycerin-Silberlösung.

Silbernitrat . . .	2 gr,
Destill. Wasser . .	3 cc,
Reines Glycerin .	20 cc.

Rasches Auswaschen in destill. Wasser und in wiederholt erneuertem Alkohol. Schneiden unter Alkohol.

Schnelles Eintauchen der Schnitte in physiologische Kochsalzlösung ($^3/_4$ %). Alkohol absol., Kreosot, Kanadabalsam.

Ferria empfiehlt, um bei der Färbung nach Martinotti die elastischen Fasern rein schwarz, resp. den Grund ungefärbt zu erhalten, die Schnitte kurze Zeit mit Aetzkalilösung zu behandeln, resp. bis 24 Stunden in Alkohol absol. liegen zu lassen.

Verfahren von Mibelli.

1. Schnitte in Alkohol absol. gehärteter, in Paraffin eingebetteter Organe werden in ein Gemisch folgender Farblösungen 36—48 Stunden übertragen:

a) Safranin	0,5,	b) Safranin	0,5,
Warmes Wasser (80° C.) . .	50,0.	Alkohol 90 %	50,0.

Zur Lösung a wird nach Abkühlung Lösung b gegossen.

[1]) Martinotti, Comm. alla R. Accad. di Med. di Torino. 1888.

2. Uebertragen eines einzelnen Schnittes in ein Uhrschälchen mit Salzsäure-Alkohol (10 Tropfen auf 100 ccm Alkohol absol.), und dann
3. in ein zweites, drittes Schälchen und so fort, bis der letzte Salzsäure-Alkohol ungefärbt bleibt.

   In diesem bleibt der Schnitt 5—10 Minuten und kommt
4. in Alkohol absol., Bergamottöl, Xylol, Kanadabalsam.

Verfahren von Wolters.

1. Die recht dünnen Schnitte bleiben 24 Stunden in einer Lösung von
   Vanadium chloratum 10 % 2 Theile,
   Aluminium acetic. 8 % . 8 Theile,
2. werden dann in Wasser abgespült,
3. in Kultschitzky'scher Hämatoxylinlösung 24 Stunden im Wärmeschrank gefärbt.
4. Differenzirung in 30—40fach verdünnter Weigert'scher Borax-Blutlaugensalzlösung oder, nach kurzem Eintauchen in 15—20 % Eisenchloridlösung in Wasser.

Die Entfärbung muss genau controlirt werden.
Die elastischen Fasern erscheinen schwarz auf gelblichem Grunde.

Verfahren von Soudakewitsch.

Besonders für Müller-Präparate.

1. Die Schnitte kommen auf 3—5 Minuten bis eine Stunde in folgende Lösung:
   1 gr Hämatoxylin, 20 ccm Alkohol absol., 20 ccm Aq. destill., 1 ccm kalt gesättigte Lösung von Lith. carb.
2. Entfärbung und gleichzeitige Lackbildung in Liq. ferr. sesquichlorat. (5—20 Sekunden, jedesmal auszuprobiren).
3. Abspülen in Wasser.
4. Alkohol absol., Oel, Balsam.

Verfahren von Köppen.

1. Die von jedem fremden Bestandtheil freien Schnitte bleiben 24 Stunden oder länger in Alkohol absol., worauf sie gut ausgebreitet
2. in folgender Farbflüssigkeit (15—24 Stunden) bleiben:
   Krystallviolett, conc. alkoh. Lösung 5,0 (im Nothfall Gentianaviolett),
   Acid. carbol. 5,0,
   Aq. destill. . . . . 100,0.
3. Uebertragung ganz glatt auf dem Spatel in Jodjodkali-Lösung (1 : 2 : 300) auf 2 Minuten,
4. in eine 10procentige wässrige Kochsalzlösung auf 5 Minuten,
5. in eine 1procentige wässrige Salzsäurelösung auf 15 Sekunden unter fortwährendem Bewegen.
6. Entfärbung in öfters erneuertem Alkohol absol., bis das Hauptgewebe in seinem ursprünglichen resp. bei Vorfärbung mit Karmin, Pikrokarmin oder Alaunkarmin (zu empfehlen) in dem röthlichen Ton erscheint.
7. Aufhellen in Tereben, Xylol, Kanadabalsam.

NB. (Die Dicke der Schnitte soll 7 μ nicht übersteigen.)

Benecke färbt die elastischen Fasern mit seinem modificirten Fibrinfärbungsverfahren. Die elastischen Fasern heben sich roth vom blauen Bindegewebe ab (siehe Fibrinfärbung).

Weigert's Verfahren.

Dasselbe findet Anwendung bei allen gebräuchlichen Härtungen (besonders Alkohol und Formol, Müller'scher Flüssigkeit, Flemming'scher Lösung, Sublimat), sowohl nach Celloidin- wie Paraffineinbettung. Entfernung des Celloidins ist unnöthig.

Färben in Resorcinfuchsinmischung von

1 procentiger Fuchsin-Lösung (nicht Rubin S.),

2 procentiger Resorcinlösung in Wasser.

200 ccm dieser Mischung werden in einer Porzellanschale gekocht und sobald sie zu kochen beginnen, mit 25 ccm Liquor ferri serquichlor. Ph. G. III versetzt. Unter Umrühren lässt man die Flüssigkeit noch 2—5 Minuten kochen. Der Niederschlag wird nach Erkalten der Masse abfiltrit, der Rückstand in der schon oben benutzten Porzellanschale unter Umrühren und Herausfischen des Filtrirpapiers mit 200 ccm Alkohol von 94 % gekocht.

Nach Erkalten wird filtrirt, das Filtrat mit Alkohol auf 200 ccm versetzt und 4 ccm Salzsäure zugefügt.

1. Färbung der Schnitte 20—60 Minuten und mehr.
2. Abwaschen in Alkohol.
3. Aufhellen in Xylol (jedoch nicht in Karbol- oder Anilinölxylol oder Nelkenöl).

Bei nicht ganz aufgehelltem Untergrund Differenziren in Alkohol und Salzsäure.

Die elastischen Fasern erscheinen dunkelblau, fast schwarz, die Kerne sind nicht tingirt, für ihre Färbung kann mit Karmin vor- oder nachgefärbt werden.

Färbung des Elacins. Die Elacinfasern sind äusserlich den elastischen Fasern sehr ähnlich, nehmen aber basische Farbstoffe aus alkalischen Lösungen auf (Unna).[1])

Isolirte Darstellung des Elacins. Methylenblau-Tanninmethode. Die Elacinfasern erscheinen roth auf blauem Grunde.

a) 1. Polychrome Methylenblaulösung 10 Minuten.
2. Wasser.
3. Concentrirte (33 procentige) wässrige Tanninlösung 15—20 Minuten.
4. Gründliche Spülung in Wasser.
5. Alkohol absol., Oel, Balsam.

Wasserblau-Safraninmethode:

b) 1. Wasserblau (1 procentiges) 2—5 Minuten.
2. Wasser.
3. (1 procentige) Lösung von Saffranin in Anilinwasser 3 Minuten.
4. Spiritus dil. mit Zusatz von 1 Tropfen sauren Alkohols zum Schälchen, einige Sekunden.
5. Alkohol absol., Oel, Balsam.

[1]) Monatshefte für praktische Dermatologie. XIX. Bd. 1894.

Gleichzeitige Darstellung von Elastin und Elacin.

a) Orcëin-Tanninmethode:

1. Rapide Vorfärbung mit saurer Orcëinlösung (s. S. 244 Methode Unna-Tänzer.)
2. Polychrome Methylenblaulösung $^1/_4$ Stunde.
3. Wasser.
4. Concentrirte (33procentige) Tanninlösung 10 Minuten.
5. Gründliche Spülung in Wasser.
6. Alkohol absol., Oel, Balsam.

b) Orcëin-Saffraninmethode:

1. Rapide Vorfärbung mit saurer Orcëinlösung.
2. Wasser.
3. 1procentige wässrige Saffraninlösung 5 Minuten.
4. Wasser.
5. Alkohol absol., Oel, Balsam.

I. Unna's Methylenblaufärbung der Plasmazellen und Mastzellen.[1])

I. Hierfür sind nur Schnitte aus Präparaten, die in Alkohol, höchstens noch solche, die in Sublimat und Alkohol conservirt sind, geeignet.

Scharf und dunkel werden die Plasmazellen gefärbt in

Methylenblau .	1,0.
Kali causticum .	0,05,
Aq. destill. . .	100,0.

Einige Tropfen werden in einem Uhrschälchen mit Anilinwasser auf das 10-, 50-, 100fache verdünnt. Dauer der Färbung $^1/_2$ bis mehrere (12) Stunden oder eine Nacht. Darauf rasche Entwässerung in absolutem Alkohol oder Trocknen zwischen Fliesspapier, Differenzirung in Kreosol, Abspülen in Xylol und Balsameinschluss.

II. Die Schnitte in Alkohol gehärteter Präparate werden in altem basischem Methylenblau, sogenanntem polychromem Methylenblau (welches Methylenviolett und Methylenroth enthält), $^1/_4$—12 Stunden gefärbt. Abspülen in Wasser mit einigen Tropfen von Unna's Glycerin-Aetherlösung (zu beziehen von Grübler in Leipzig) $^1/_4$ Minute, gründliches Abspülen in Wasser, Alkohol, Bergamottöl, Kanada.

III. Ueberfärbung in polychromem Methylenblau $^1/_2$ Stunde, Abspülen in Wasser (Trocknen zwischen Fliesspapier,) gleichzeitige Entwässerung und Differenzirung 3—5 Minuten in Alkohol absol. 10,0, Xylol 15,0, Anilinöl 25,0, Xylol, Kanada.

IV. 1. Färbung in polychromem Methylenblau 12 Stunden.

2. Rasches Abspülen in Wasser.

---

[1]) Unna, Ueber Reifung unserer Farbstoffe. — Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie u. m. T. Bd. VIII, 1892. — Monatschrift für praktische Dermatologie. XIX. Bd. 1894.

3. Trocknen auf dem Spatel.
4. Entwässerung in Alkohol absol. 20 Theile und Xylol 30 Theile $^1/_2$—1 Minute.
5. Xylol.
6. Differenzirung in Anilinöl Alaunmischung mit überschüssigem Alaun als Bodensatz, welches vor dem Gebrauch nach Schütteln filtrirt wird 5—10 Minuten.
7. Abspülen in Xylol, Balsam.

---

7. Kapitel.

Untersuchung des Knochensystems.

Die Untersuchung des Knorpels ist an frischen wie an gehärteten Präparaten ausführbar, für die Untersuchung der Knochen auf feinere Details ist jedoch die Entkalkung nöthig, nachdem der Knochen längere Zeit in kleineren Stücken conservirt wurde.

Zur Härtung des frischen Knochens, des Knorpels und Markes dient Müller'sche Flüssigkeit. Nach mehrwöchentlichem oder monatelangem Aufenthalt in dieser werden die Präparate gründlich ausgewaschen, darauf in Alkohol nachgehärtet und hierauf entkalkt. Siehe Entkalkungsmethode S. 56 u. f.

Zur Färbung ist Hämatoxylin und Karmin oder an dessen Stelle Eosin sehr geeignet.

Hämatoxylin färbt insbesondere den verkalkten Knorpel nach Entziehung seiner Salze sehr schön und scharf.

Unverkalkter Knorpel wird im ruhenden Zustand eher mit Karmin, der wuchernde mit Hämatoxylin gefärbt. Der entkalkte Knochen wie das unfertige (osteoide) Knochengewebe färbt sich mit Karmin, die Osteoblasten und Knochenzellen mehr mit Hämatoxylin.

Die instruktivsten Bilder liefert die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Karmin oder Eosin oder mit Hämatoxylin und Pikrinsäurelösung (Klaatsch).

Färbung der Hämatoxylinpräparate in gesättigter Pikrinsäurelösung 1—2 Minuten.

Eisessig $^1/_2$ Minute.

Auswaschen in destill. Wasser.

Der Knorpel ist mattblau, der verkalkte Knorpel tiefblau, Knochen gelb.

Die Methode der Doppelfärbung eignet sich besonders für das Studium der Knochenbildung unter normalen wie pathologischen Verhältnissen (Rhachitis etc.)

Die in Säuren entkalkten Knochen gestatten uns nicht, über die Ablagerung des kalklosen Knochens eine richtige Vorstellung zu ge-

winnen. Pommer benutzt hierfür die Eigenschaft der Müller'schen Flüssigkeit, mittelst ihrer unvollkommen entkalkenden sauren Salze nach längerer Einwirkung die kalklosen Knochenpartien gegen die kalkhaltigen deutlich abzugrenzen.

Sobald nämlich die Knochen durch lange Einwirkung der Müller'schen Flüssigkeit mit dem Rasirmesser schnittfähig geworden sind, ist die verkalkte Knochensubstanz durch ihr homogenes Aussehen von der kalklosen, welche eine deutliche fibrilläre Struktur zeigt, leicht zu unterscheiden. Die kalklosen Stellen färben sich leichter in 4—8 Stunden mit Karmin.

Knochen, welche in Säuren, wie z. B. in der v. Ebner'schen Flüssigkeit, entkalkt wurden, färbt Pommer in einer Lösung entweder aus

1. Dahlia . . . . . 0,04 pro Mille oder
2. Safranin (wässrig) . 0,1 pro Mille oder
3. Methylgrün . . . 0,30 pro Mille oder mehr.

Die vor der Entkalkung kalkhaltigen, jetzt entkalkten Partien färben sich in 12 bis 18 Stunden mit einer dieser Farben, während dagegen die schon vor der Entkalkung kalklosen Partien farblos bleiben und sich scharf abgrenzen.

Scheffer benützt zur Färbung des entkalkten Knochengewebes Saffranin.

1. Entkalkung in Salpetersäure oder salzsäurehaltiger Kochsalzlösung.
2. Färben in wässriger Saffraninlösung 1 : 2000 $^1/_2$—1 Stunde lang.
3. Abspülen in Wasser.
4. Uebertragen in 0,1procentige Sublimatlösung.
5. Glycerin.

Alkohol ist möglichst zu vermeiden. Für Erhaltung von Dauerpräparaten werden nach 4. die Schnitte rasch durch Alkohol gezogen, das Wasser durch angedrücktes Fliesspapier grösstentheils und der Rest durch Bergamottöl, welches ziemlich viel Wasser aufzunehmen vermag, entfernt. Kanadabalsam.

Die Sharpey'schen Fasern werden an nicht entkalkten Schliffen durch 15procentige Kochsalzlösung oder concentrirte Salzsäure durch $^1/_2$—1 Minute langes Erhitzen in einem rothglühenden Platin- oder Porzellantiegel sichtbar. Zur Färbung der Fasern werden die Schnitte in concentrirter Essigsäure durchsichtig gemacht und $^1/_4$—1 Minute in concentrirter Lösung von Indigkarmin gefärbt, mit Wasser ausgewaschen und in Glycerin eingeschlossen. Auch die von Beneke modificirte Weigert'sche Fibrinfärbung ist für die Darstellung der Fasern geeignet.

Um Knochenschliffe zu erhalten, werden mit feiner Säge 0,3 bis 0,5 mm dicke Scheiben vom Knochen abgesägt und auf gröberem, dann etwas feinerem Schmirgelpapier trocken und schliesslich auf einem feinen Stein mit Wasser und dann mit Glycerin geschliffen. Zuletzt wird der

dünne Schliff auf Papier oder Glas polirt. Zur Schonung der Finger kann man beim Schleifen ein Stückchen Kork auf den Schnitt legen oder ihn mit Gummi arab. an einem solchen befestigen. Man reinigt die fertigen Schnitte in Wasser mit einem feinen Pinsel und schliesst sie lufttrocken in zähem Balsam ein.

Durch Behandlung der Schliffe mit einer concentrirten Alaunlösung oder stark alaunhaltiger Lösung von Alaunkarmin und Einschluss in Glycerin oder Alaunglycerin (v. Recklinghausen) wird Kohlensäure aus dem Knochen frei, wodurch ebenfalls Füllung der Kanälchen erreicht wird. Auch saures Glycerin macht Kohlensäure aus dem Knochen frei.

Für Erhaltung von Details fixirt man Knochenstücke in concentrirter Sublimatlösung, wäscht aus und härtet in Alkohol. Nach Durchfärbung der Stücke werden dünne Lamellen abgesägt, 24 Stunden in dicker Gummilösung und ebenso lange in 96procentigem Alkohol aufbewahrt. Die lufttrockenen Stücke werden dann mit immer feineren Feilen glatt geschliffen, auf Glasplatten mit Gummilösung aufgeklebt und dann auch die andere Seite geschliffen (Schaffer).

Knochenschliffe werden gefärbt, nachdem man sie zuerst in Xylol, dann in concentrirter alkoholischer Fuchsinlösung 2 Minuten gekocht hat. Man legt hierauf den mit Farbstofflösung bedeckten Schnitt 2—3 Tage lang auf die Schenkel einer Pincette. Der angetrocknete Farbstoff wird vorsichtig mit einem Scalpell abgeschabt, der Schliff in Xylol geschliffen, abgepinselt und in Xylolbalsam eingelegt. Die Kanälchen im Knochen sind nun mit Farbstoff imprägnirt (Zimmermann).

Für das Studium der Knochenzellen eignen sich in Müller'scher Flüssigkeit conservirte oder vergoldete, dann entkalkte und mit Hämatoxylin gefärbte Schnitte.

Knochenmark wird in Zenker'scher, Müller'scher, Flemming'scher Sublimat-Formollösung conservirt. Zum Färben dienen Hämatoxylin und die verschiedenen Methoden der Blutuntersuchung. Zur frischen Untersuchung verwendet man ausgepressten Marksaft. Zur Fixirung dienen am Deckglas fixirter Marksaft oder excidirte Markstücke.

---

8. Kapitel.

Untersuchung von Muskeln, Sehnen, Schleimbeutel.

Isolirung der Muskelfasern. Die quergestreiften Muskeln werden frisch in Kochsalz zerzupft. Zum Isoliren nicht conservirter Muskelfasern kann man sich auch der 32,5procentigen Kalilauge bedienen. Nach 10—15 Minuten langem Verweilen in einer solchen Lösung lassen sich die Fasern sehr vollständig isoliren. Sie sind etwas geschrumpft, die Kerne als helle Stellen leicht erkennbar.

In Müller'scher Flüssigkeit gehärtete Muskeln werden nach $^1/_4$- bis mehrstündigem Aufenthalt in Glycerin in Wasser zerzupft. Betreffs der Isolirung der Muskelfasern siehe auch 2. Kapitel, Isoliren, Seite 35.

Härtung der Muskeln. Conservirung in absolutem Alkohol giebt weniger hübsche Bilder als die Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit und nachherige Alkoholhärtung, wenn die Präparate recht frisch eingelegt werden. Das Gleiche gilt für die Sublimathärtung und Fixirung in dem Flemming'schen Gemisch und anderen Fixirflüssigkeiten.

In gleicher Weise werden Sehnen und Schleimbeutel behandelt. Für entzündliche Processe dieser und Wucherungen (Tuberkulose) eignet sich besser Conservirung in absolutem Alkohol.

Für Anfertigung von Schnitten, insbesondere von Querschnitten, ist Einbettung nöthig.

Zur Färbung dient Hämatoxylin, Alaunkarmin, Safranin. Für Doppelfärbung Pikrokarmin, welches die Kerne roth, das übrige gelb färbt, Hämatoxylin und Karmin oder Hämatoxylin und Eosin.

Fett wird durch dünne Essigsäure oder Osmiumsäure an den frischen Präparaten oder durch Osmiumbehandlung nach Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit nachgewiesen.

---

9. Kapitel.

Untersuchung des Centralnervensystems.

Frische Präparate. Gehirn- und Rückenmarksstücke müssen möglichst frisch, spätestens einen Tag p. mortem (bei kühler Jahreszeit) für die mikroskopische Untersuchung verwendet werden und dürfen mit Wasser nicht in Berührung gekommen sein.

Die Untersuchung des frischen Präparates wird an kleinen Stückchen, die in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft wurden, vorgenommen.

Zur Isolirung besonders der Ganglienzellen dient

1. ein 2—3tägiger Aufenthalt kleiner Stücke von $^1/_2$ ccm in Müller'scher Flüssigkeit.
2. 2wochenlanger Aufenthalt in einer 1procentigen Lösung von Kali bichrom.
3. 3—5tägiger Aufenthalt in Chromsäure 0,5—1 auf 1000 Wasser.
4. 2wochenlanges Verweilen in $^1/_3$ Alkohol.
5. Einlegen in Osmiumsäure 1 p. 1000 für 24 Stunden.

Die Ganglienzellen werden durch Schütteln und Zupfen isolirt, in Wasser, Kochsalz mit etwas Glycerin untersucht.

Von isolirten Ganglienzellen kann man Dauerpräparate erhalten, indem man dieselben auf dem Glase antrocknen lässt und dann mit Karmin oder Methylenblau 1 % färbt. Alkohol absol., Xylol, Kanadabalsam.

Färbung frischer Präparate. Zu dem zerzupften Präparat wird Methylenblaulösung von 0,5 % gegeben. Man legt auf das zerzupfte Gewebe ein Deckglas auf, zieht die beiden Gläser voneinander, tropft 3- bis 4mal Methylenblau auf und lässt an der Luft trocknen. Kanadabalsam.

Zur Färbung feuchter Präparate dient Ammoniakkarmin, Hämatoxylin, Bismarckbraun, dünne Jodlösung.

Härtung des Centralnervensystems.

Die Art der Härtung und Aufbewahrung richtet sich zum Theil nach dem Zweck der Untersuchung. Für die meisten Fälle kommt Müller'sche Flüssigkeit und Kali bichrom. in Anwendung. Die Präparate werden möglichst frisch in kleinen Stücken eingelegt. Bei grösseren Stücken muss der Conservirungsflüssigkeit durch Einschnitte Zutritt verschafft werden.

Die Müller'sche Flüssigkeit wird am ersten Tage mehrmals, und an jedem Tage der ersten Woche einmal erneuert. Sie muss reichlich sein und etwa das Zehnfache des Volumens von dem zu härtenden Präparate betragen. Von der zweiten Woche an wird die Flüssigkeit nur wenig gewechselt. Um Pilzbildung zu verhüten, wird Kampher zugegeben. Dauer der Härtung für kleinere Stücke 3—4 Monate, für grössere ein halbes Jahr. Länger conservirte Stücke werden in Müller'scher Flüssigkeit, die mit Wasser verdünnt wurde, aufbewahrt. Mit dem Alter werden die Theile brüchig.

Im Brütofen ist das Rückenmark, welches man auch durch mehrere fast durchgehende Einschnitte der möglichst raschen Einwirkung der Härtungsflüssigkeit zugänglicher macht, bereits in 3—4 Wochen durchgehärtet. Häufiger Wechsel der Flüssigkeit ist auch hier nöthig.

Aus der Müller'schen Flüssigkeit kommen die Präparate direct in Alkohol von 50—70 %, nach 24 Stunden in Alkohol von 90 % und dann in absoluten Alkohol, der, so lange er sich noch trübt, erneuert wird. Die Präparate werden vom Beginn der Alkoholbehandlung an im Dunkeln aufbewahrt. S. S. 22 u. 42 Chromsäure.

Die Behandlung mit Müller'scher Flüssigkeit und Nachhärtung in Alkohol findet insbesondere für Darstellung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer, wie der Achsencylinder, Markscheiden, Glia, pathologischer Veränderungen Anwendung.

Rascher härtet (im Brutofen im 5, bei Zimmertemperatur 10 Tagen) die Erlitzki'sche Flüssigkeit, S. S. 49, die jedoch die Theile etwas schrumpfen macht. Niederschläge in den Schnitten können durch warmes Wasser, durch leicht mit Salzsäure angesäuertes Wasser oder durch 0,5procentige Chromsäure vor der Alkoholbehandlung zum Theil wieder entfernt werden.

Alkohol, welcher Gehirn und Rückenmark zu sehr schrumpfen lässt, findet nur für gewisse Fälle (Spinalganglien) als 90—96procentiger

Alkohol für Färbung der Ganglienzellen nach Nissl oder mit Thionin nach Behandlung der Stücke mit anderen Fixirungen Verwendung.

Formol als 10procentige Lösung des Formaldehyds härtet sehr rasch, ohne wie Alkohol, Wasser etc. manche Stoffe zu entziehen. Ein grosser Vorzug der Formolhärtung ist die Möglichkeit verschiedener Färbungsmethoden.

Formol findet auch Anwendung als 2—4procentige Lösung in Alkohol von 85 %. In der Orth'schen Mischung findet es sich mit Müller'scher Flüssigkeit. S. S. 48. Marina benützt Formol 5 ccm mit Alkohol (90 %) 100 ccm und Chromsäure 0,1 ccm, worin er das ganze Gehirn conservirt. Nach 24 Stunden wird dasselbe zerlegt und die einzelnen Stücke in frische Lösung gebracht, welche die ersten 3—5 Tage erneuert wird. Hierauf werden die Stücke (aufgeklebt) in 90procentigem Alkohol oder in 1procentiger alkoholischer (90 %) Chromsäurelösung aufbewahrt.

Für das Studium feiner Details besonders an den Ganglienzellen ist die Anwendung von Fixirmischungen (Alkohol absol., Flemming's Chromosmiumessiggemisch, Sublimat, Salpetersäure, Pikrinsäure) auf kleine Stücke nöthig.

In Flemming's Gemisch

wässrige Osmiumsäure von 2 % . . 41,
wässrige Chromsäure von 1 % . . 151,
Eisessig 1,

bleiben die Stücke 3—5 Tage. Hierauf wird sorgfältig in fliessendem Wasser ausgewaschen, da sonst der Alkohol überschüssige Osmiumsäure aus dem Präparat zieht, welche an dem Präparat haftet. Härtung in Alkohol von steigender Concentration. S. S. 46.

Osmiumsäure als 1procentige Lösung dient hauptsächlich zur Markscheidenfärbung, dem Golgi- und Cajal'schen Verfahren, der Marchi'schen Methode zum Nachweis des Fettes. Nach 1—5 Tagen Waschen und Conservirung in Alkohol.

Sublimat. In der Wärme gesättigte Lösung von 7,5 Procent in 0,5procentiger Kochsalzlösung. Kleine Stücke bleiben 24—36 Stunden in der Lösung, hierauf werden sie 1—2 Tage in Wasser gewaschen und dann in 70, 80, 90, 96procentigem, absolutem Alkohol je einen Tag nachgehärtet. Einbettung in Paraffin und Celloidin.

Salpetersäure kommt als 10procentige Lösung, Pikrinsäure als gesättigte wässrige Lösung in Anwendung. Dauer der Einwirkung 24 Stunden.

Aufkleben, Einbetten. Kleine Stücke gehärteter Präparate werden mit Gummilösung auf Kork oder Holz geklebt. In starkem Alkohol wird der Gummi in $^1/_2$—2 Stunden hart.

Zur Einbettung dienen Celloidin und Paraffin, s. Einbettung. Celloidinschnitte können durch vorsichtiges Andrücken an den Objekt-

träger mit Fliesspapier auf diesem schon befestigt und dann auf Objektträger gefärbt werden. Siehe auch Serienschnitte u. s. w. S. 95.

Paraffinschnitte werden auf den mit Wasser befeuchteten Objektträger gelegt, sie breiten sich aus, das überschüssige Wasser wird mit Fliesspapier weggenommen, der Objektträger kommt auf einige Stunden in den Paraffinofen bei 35—60, bis das Paraffin durchscheinend ist, hierauf in Xylol, Alkohol absol., Alkohol von 80 %, Färbung.

A. Färbung degenerirender Nervenfasern nach Marchi und Algeri.

Die Marchi'sche Färbung ist eine Fett- und nicht eine Markscheidenfärbung. Sie dient nur zum Nachweis der Zerfallsprodukte des Nervensystems.

1. Härtung kleiner Stücke in Müller'scher Flüssigkeit 8 Tage bis 3 Monate, mindestens so lange, bis sie auch im Centrum gelb gefärbt sind.
2. Uebertragung der Präparate ohne vorheriges Auswaschen auf 5—8 Tage in eine Mischung aus

   Müller'scher Flüssigkeit . . . 2 Theile,
   Osmiumsäure 1proc. . . . . 1 Theil.

3. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.
4. Härtung in Alkohol von steigender Concentration.
5. Celloidineinbettung.
6. Schneiden und Einlegen in erwärmten Kanadabalsam, der nicht in Chloroform gelöst sein darf.

Die degenerirenden Fasern werden geschwärzt, die Markscheiden der normalen nur hellbraun gefärbt, vermuthlich weil durch die Chrombeize die normale Markscheide die Fähigkeit verliert, in einer Mischung der obigen Zusammensetzung die Osmiumsäure zu reduciren, während die degenerirenden Fasern — sowie das Fett — diese Fähigkeit bewahren.

Nach Marchi behandelte Präparate eignen sich auch zum Zerzupfen.

Nachfärbung in Karmin und van Gieson's-Gemisch, worin neben den Achsencylindern die Körnchenzellen und die übrigen Zellen gefärbt werden. Die Weigert'sche Kupferhämatoxylinfärbung ist noch ausführbar, besonders nach ein bis mehreren Wochen langem Aufenthalt in Müller'scher Flüssigkeit.

Auch nach Formalinhärtung sind Degenerationsprodukte färbbar zu machen.

1. Durch Uebertragen der Formolpräparate in Flemming'sche Lösung und entsprechende Weiterbehandlung.
2. Durch Uebertragen der Celloidinschnitte in 0,5procentige Chromsäure für 3 Stunden und in 1procentige Osmiumsäure.

3. Durch Färben der Celloidinschnitte in Hämatoxylin und Auswaschen in gesättigter Pikrinsäurelösung. Die Körnchenzellen färben sich blau, das übrige grün (Basch).

Azoulay legt die Schnitte der in Müller'scher Flüssigkeit gehärteten und in Celloidin eingebetteten Präparate in dünne Osmiumsäure 1 : 500 — 1000, erwärmt sie dann mit 5procentiger Tanninlösung 5 Minuten, wäscht aus, färbt in Karmin. Das Myclin schwärzt sich. Die Methode eignet sich mehr für die groben als für die feineren Fasern.

B. Kernfärbung.

Neben den gewöhnlichen Kernfärbemethoden finden noch van Gieson's Färbung, wodurch auch Glia und Achsencylinder gefärbt werden, die Nissl'schen Färbungen und die Färbung mit Ehrlichs Triacidgemisch (S. S. 125) nach Rosin (Säurefuchsin, Methylorange, Methylgrün) Anwendung.

Färbung mit Triacidgemisch.

Für Schnitte ohne Celloidin, Färben 5 Minuten in

Ehrlich's Triacidgemisch . . .	0,4
Aq. destill.	100,0
Säurefuchsin 0,5%	7,0

Für Celloidinschnitte Färben 1 Minute in einem Gemisch aus 4 Theilen der obigen Lösung mit 1 Theil 5procentiger Säurefuchsin.

Abwaschen in Aq. destill., bis keine Farbwolken mehr abgehen 1—2 Minuten, Uebertragen in Essigsäure 1 : 2000 5—10 Sekunden, dann in Wasser, kurze Zeit in Alkohol absol., Xylol, Kanada.

Die Blutkörper und die Markscheiden (an Chrompräparaten) werden orange, letztere bei längerer Chrombehandlung blaugrün, die Gefässwände und sklerosirte Glia erscheinen purpurn, Achsencylinder, Gliazellen, Ganglienzellen, weisse Blutkörper, Kerne und Kernkörperchen mancher Ganglienzellen rothviolett, Kerne der Gefässwand, des Bindegewebes der Glia und der Leukocyten blaugrün.

Für Karyokinese empfiehlt Weigert:

1. Härtung in Alkohol wie beim Nissl'schen Verfahren.
2. Uebertragen dünner Schnitte in Tinctura ferri Rademacheri auf $^1/_2$ Stunde,
3. Leichtes Abspülen in Wasser.
4. Färben in

Hämatoxylin	1,0	
Alkohol absol.	10,0	
Aq. destill.	100,0	$^1/_2$ Stunde.

5. Abspülen, Differenzirung in saurem Alkohol

Salzsäure	1,0
Alkohol 70%	100,0

6. Wasser 10 Minuten, Alkohol, Oel, Balsam.

C. Färbung der Nervenzellen.

Hierzu dienen die Karmine, die verschiedenen Verfahren für Darstellung von Kern- und Protoplasmastrukturen wie die Methoden nach Nissl zur Darstellung der Nissl'schen Körner (Tigroidschollen), die Eisenhämatoxylinfärbung, Methylenblaufärbung, das Golgi'sche Verfahren, die vitale Methylenblaumethode Ehrlich's.

Färbung der Ganglienzellen nach Nissl.

a) Färbung mit Magentaroth.

1. Härtung kleiner Stücke von $^1/_2$ cm Durchmesser in Alkohol von allmählich steigender Concentration oder in 10procentigem Formol.
2. Färbung der Schnitte in concentrirter wässriger und erwärmter Lösung von Magentaroth[1]) in einem Uhrschälchen, bis kleine Bläschen an der Oberfläche platzen.
3. Nach Erkalten der Farblösung Abspülen der Schnitte einige Minuten in Alkohol absol.
4. Aufhellen in Nelkenöl, bis keine Farbwolken mehr abgehen.
5. Uebertragen in reines Nelkenöl.
6. Absaugen des Nelkenöls, Xylol, Xylolkanada.

Die Kerne der Ganglienzellen erscheinen blass, das Kernkörperchen blassroth.

b) Nissl's Färbung mit Methylenblau.

1. Härtung in 96procentigem Alkohol oder einer anderen Fixirflüssigkeit 24—36 Stunden. Aufkleben der nicht eingebetteten Stücke auf Holz mit Fischleim oder Gummi arab.
2. Färben der Schnitte in einem Uhrschälchen über der Weingeistflamme, bis Bläschen platzen (bei 65—70°) in einer Lösung von 3,75 Methylenblau (B Patent;)

Venetianischer Seife geschabt .	1,75
Aq. destill.[2])	1000,0

3. Auswaschen nach der Abkühlung in einer Mischung von

Anilinöl (wasserklar)	10
96procentigem Alkohol . . .	90

   bis weisse und graue Substanz sich unterscheiden, erstere weiss, letztere blau erscheint.
4. Uebertragen der Schnitte auf den Objektträger, Abtrocknen mit Fliesspapier, Auftropfen von Origanumöl von mittlerer Helligkeit oder Ol. Cajeputi, welches man bald wieder abfliessen lässt.
5. Abtrocknen mit Fliesspapier und Entfernung des noch im Schnitt vorhandenen Oels mit Benzin. Der Schnitt wird undurchsichtig.

---

[1]) Die Färbung ist gut, wenn die weisse Substanz blass und die graue blassroth erscheint.

[2]) Die Lösung färbt erst nach 1—2 Wochen und kann nach Gebrauch zurückfiltrirt werden.

6. Abtupfen des Benzins, Bedecken des Schnittes mit einer zur Konsistenz dünnen Kanadabalsams eingedampften Lösung von Kolophonium in Benzin[1]).
7. Führen des Objektträgers durch die Flamme, wobei sich das Benzinkolophonium entzündet, welches wieder ausgeblasen wird.
8. Auflegen des Deckglases, leichtes Erwärmen, bis das Benzinkolophonium sich ausgebreitet hat.

Die Kerne sind blass, das Kernkörperchen blau, die Strichelungen in der Zelle deutlich. Veränderte Zellen zeigen dunkle Kerne.

c. Nissl's einfaches Verfahren.

1. Härtung wie oben.
2. Färben in 0,5procentiger erwärmter Methylenblaulösung, bis Bläschen platzen.
3. Auswaschen nach der Abkühlung in

Anilinöl	20,0
Alkohol 90procentig . . .	200

bis keine Farbwolken abgehen und weisse und graue Substanz deutlich zu unterscheiden sind.

Und weiter wie oben.

d) Modificirte Nissl'sche Methode nach Sadorsky.

1. Härten in Formol (10%) 3 Tage.
2. Alkohol (96%) 2 Tage, Alkohol absol. 3 Tage, Celloidin.
3. Färben in Methylenblaulösung (1%) oder in Karbolfuchsin (gesättigte 5procentige Karbolsäurelösung).
4. Differenzirung in Essigsäure 1%, bis graue und weisse Substanz sich unterscheiden lassen.
5. Alkohol absol., Xylol, Kanada.

e) Modificirte Nissl'sche Methode nach Held.

1. Paraffineinbettung, Aufkleben der 1—2 μ dicken Schnitte mit dünnem Alkohol.
2. Färben 1—2 Minuten unter leichtem Erwärmen in Erythrosinlösung.

Erythrosin pur. . .	1,0
Aq. dest.	150,0
Eisessig	2 Tropfen.

3. Auswaschen in Wasser.
4. Nachfärben in einem Gemisch aus
   a) wässriger Acetonlösung 1 : 20
   b) Nissl'scher Methylenblaulösung } zu gleichen Theilen

   bis der Acetongeruch verschwunden ist.
5. Nach dem Erkalten Differenzirung in 0,1procentiger Alaunlösung einige Sekunden bis Minuten, bis der Schnitt wieder röthlich erscheint.

---

[1]) Kolophonium wird klein gestossen und mit der doppelt hohen Benzinschicht bedekt. Das Kolophonium löst sich.

6. Abspülen in Alkohol absol., Xylol, Benzinkolophonium. Die Nissl'schen Körperchen erscheinen blau bis blauviolett, die Grundmasse, Kern- und Kernmembran roth, Nucleolen blau bis violett.

f) Modificirte Nissl'sche Färbung nach von Lenhossék.

1. Härtung in zur Hälfte verdünntem Formol, 2 Tage.
2. Härtung in absol. Alkohol, 2 Tage.
3. Celloidin oder Paraffineinbettung.
4. Färben in conc. wässeriger Lösung von Thionin oder Toluidinblau, 5 Minuten.
5. Abspülen in Aq. destill., einige Sekunden.
6. Differenzirung in einer Mischung von Alkohol absol. 9 Thle., Xylol 1 Thl.
7. Uebertragen in Ol. Cajeputi.
8. Kurzer Aufenthalt in Xylol.
9. Einschluss in Damar.

g) Färbung nach Nissl mit Hämatoxylin (Heimann[1]).

1. Fixirung der Spinalganglien, 2 Stunden in concentrirter Sublimatlösung.
2. Einlegen in 70procentigen Jodalkohol, 6 Stunden.
3. Einlegen in 96procentigen, 6 Stunden und
4. ebenso lange in Alkohol absol.
5. Färben in stark verdünntem Delafield'schen Hämatoxylin von Rosafarbe, 6—24 Stunden, bis die gewünschte Intensität der Färbung erreicht ist etc.

h) Färbung nach Nissl mit Neutralroth[2]) (Rosin[3]).

1. Härtung in 4procentiger Formollösung, 3 Tage und mehr.
2. Härtung in Alkohol absol., 3 Tage.
3. Einbettung in Celloidin.
4. Schneiden und
5. Färben in concentrirter, wässriger Lösung von Neutralroth, $^1/_2$ bis 24 Stunden.
6. Gründliches Auswaschen in Aqu. destill.
7. Säurefreier Alkohol.
8. Xylol, Xylolcanada.

---

[1]) Virchow's Archiv. 152. Bd. 1898.

[2]) Die „neutrale" rothe Farbe wird durch Säuren leuchtend roth, durch Alkalien unter Verblassen gelb. Alle Theile, die sich mit basischen Anilinfarbstoffen (Kernfarben) färben (basophile Substanzen) werden roth, die mit sauren Farbstoffen färbbaren acidophilen hellgelb. Bei den Nervenzellen verhalten sich die Granula Nissl's wie sonst die Kerne basophil, die Kerne der Ganglienzellen dagegen werden nicht durch basische Farben gefärbt, das Kernkörperchen verhält sich neutral.

[3]) Deutsche med. Wochenschrift No. 39. 1898.

i) Färbung von Cox.

1. Fixiren 2 Tage lang in:

Concentrirter Sublimatlösung	15,0
Platinchloridlösung . . .	15,0
Osmiumsäure, 1procentig .	10,0
Eisessig	5,0

2. Alkohol, Paraffineinbettung.
3. Uebertragen der Schnitte in 25procentige Tanninlösung, 8 Stunden.
4. Auswaschen.
5. Uebertragen der Schnitte in 2,5procentige Eisenoxydammoniumsulfatlösung, 5—10 Minuten.
6. Auswaschen, 10 Minuten.
7. Färben, 12—18 Stunden in:

Methylenblau	1,0
Kaliumcarbonat	1,0
Wasser	100,0

Vor dem Gebrauch wird die Mischung erst mit 2procentiger Phenollösung versetzt 1—2 : 15. Hierauf wird auf dem Wasserbade in 15 Minuten gefärbt.

Golgi's Chrom-Silber- und Sublimatverfahren.

Das Verfahren, wodurch nur einzelne Theile dargestellt werden, gestattet nicht in der Ausdehnung wie andere Methoden eine Verfolgung des Faserschwundes und eignet sich darum weniger für die Untersuchung pathologischer Veränderungen.

Es besteht in einer Imprägnation einzelner Ganglien- und Gliazellen und ihrer Ausläufer, wie der Nervenfasern durch doppelt chromsaures Silber oder Chromquecksilber.

Zu diesem Zweck werden kleine, höchstens bis 1 cm grosse Stücke des frischen Centralnervensystems in eine Lösung

1. von Kalibichromicum- oder in eine solche mit Osmiumsäure und hierauf
2. in eine Lösung von Silbersalpeter oder Sublimat gebracht.

Bei gelungener Imprägnation erscheinen die oben genannten Theile tiefbraun bis schwarz.

Das Silberverfahren ist nicht ganz zuverlässig. Bessere Resultate giebt das mit Sublimat.

Golgi's Methode für das entwickelte Rückenmark zerfällt in ein langsames, gemischtes und rasches Verfahren.

a) Das langsame Verfahren.

1. Conservirung 15—20 Tage im Winter, 1—$1^1/_2$ Monat im Sommer in einer reichlichen Menge einer 2procentigen Lösung von doppeltchromsaurem Kali bei 25 °[1]) im Dunkeln.

[1]) Im Sommer ist die Aufbewahrung im Wärmeschrank nicht nöthig.

2. Einlegen (ohne Waschen) auf 24—48 Stunden in eine 0,75procentige Silber- oder 0,5procentige Sublimatlösung; in letzterer verbleiben die Stücke länger.

b) Das gemischte Verfahren.

1. Härten 3—4 Tage in 2procentiger Kalibichromicumlösung bei 25° im Dunkeln.
2. Uebertragen auf 3—8 Tage in ein Gemisch aus 1procentiger Osmiumsäure 2 Thle., 2procentiger Lösung doppeltchromsauren Kalis 8 Thle.
3. Einlegen auf 24—48 Stunden in eine 0,75procentige Silberlösung.

c) Das rasche Verfahren.

1. Uebertragen der Stücke ohne vorherige Kalibichrombehandlung in die frisch bereitete osmiobichromische Mischung[1]) aus

   1procentiger Osmiumsäure . . . . . 1 Theil
   3,5procentiger Kalibichromicumlösung . . . 4 Theile
   einige Tage bei 25° im Dunkeln.

2. Abtrocknen.
3. Uebertragen auf 24—48 Stunden bis 6 Tage in eine grössere Menge 0,75procentiger Silberlösung[2]).

Die in der Silberlösung liegenden Präparate brauchen nicht im Dunkeln aufbewahrt zu werden.

Dauer der Aufbewahrung in der osmio-bichromischen Mischung richtet sich nach den Gegenständen, die man zur Darstellung bringen will. Im Allgemeinen bedarf das menschliche Rückenmark für:

1. die Neuroglia 2—3 Tage,
2. die Nervenzellen 3—5 Tage,
3. die Nervenfasern, Collateralen 5—7 Tage.

Das rasche Golgi'sche Verfahren eignet sich mehr für das fötale oder noch nicht ganz entwickelte Material, das langsame und gemischte Verfahren mehr für das entwickelte Mark.

Die schon einmal gebrauchte Lösung ist unbrauchbar und kann etwa nur noch dazu dienen, die frischen Präparate abzuspülen und vom anhaftenden Blut zu befreien.

In der Silberlösung bildet sich ein Niederschlag aus bichromsaurem Silber[3]). Nach der Silberbehandlung sind die Stücke meist so hart, dass sie geschnitten werden können. Zu dem Zweck werden sie mit Leim oder Gummi auf Kork oder Holz oder mit Celloidin auf Hollundermark geklebt und kurze Zeit, bis

---

[1]) 40 ccm auf ein Stück von 3—4 mm Länge.

[2]) Zusatz von Ameisensäure (Ramon y Cajal) ist nach von Lenhossék's Angabe, Der feinere Bau des Nervensystems, 2. Auflage, überflüssig.

[3]) Die für Untersuchung der Rindenschichten störenden Niederschläge auf der Oberfläche der Stücke werden vermieden durch Auftragen einer Schicht geronnenen Blutes auf die frischen Organe (Cajal), oder eines Breies aus Fliesspapier und destillirtem Wasser auf die chromdurchtränkten Stücke vor der Einwirkung der Silberlösung (Martinotti) oder durch Einbetten der Objekte nach der Behandlung mit dem Golgi'schen Gemisch in einer 10procentigen wässrigen, warmen Gelatinelösung.

sie fest haften, in Alkohol von 80 % gelegt. Die Schnitte dürfen nicht zu dünn sein. Falls das Stück nach der Silberbehandlung keine schnittfähige Consistenz hat, wird es $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in absol. Alkohol übertragen. Ein längerer Aufenthalt in Alkohol vernichtet oft die Imprägnation. Kleine Stücke werden zwischen ausgehöhlten Hollundermarkstücken geschnitten.

Zartere und unregelmässig gestaltete Stücke (Retina) kommen aus dem absol. Alkohol auf 5 Minuten in eine mitteldicke Celloidinlösung[1]). Das Präparat wird in ein Grübchen eines Hollundermarkstückes gelegt, mit Celloidin übergossen, auf 5 Minuten in 80procentigen Alkohol gebracht, ein zweites Hollundermarkstückchen auf das erstere gepasst und Präparat mit den Hollundermarkstückchen unter Benetzung mit 80procentigem Alkohol geschnitten. Man prüft den Erfolg der Imprägnation und trägt die Schnitte, falls sie gelungen ist, in absol. Alkohol.

Nachbehandlung der Schnitte.

1. Rasches Entwässern in Alkohol.
2. Aufhellen in Nelken- oder Bergamottöl (einige Minuten).
3. Eintauchen für einige Sekunden in Xylol, um sie von dem anhaftenden Oel zu befreien.
4. Einschliessen ohne Deckglas in Xyloldamar, der zum schnellen Eintrocknen bei 40° im Wärmeschrank erwärmt werden kann.

Verfahren von Ramon y Cajal.

Dieses besteht in der ausgedehnteren Benützung des embryonalen Gehirns oder Rückenmarks, welche wegen der zum Theil einfacheren Verhältnisse (einfachere Verästelung der Ganglienzellen, unvollkommene Entwickelung der Markscheide, mehr gedrängte Lage der Theile), nicht nur übersichtlichere Bilder liefern, sondern auch weniger Misserfolge geben. Ramon y Cajal benutzt ausschliesslich Golgi's rasches Verfahren, s. S. 261, mit Zusatz von etwas Ameisensäure (die nach von Lenhossék entbehrlich ist) zur Silberlösung mit der Modifikation, dass er das Präparat nochmals der gleichen Procedur unterwirft. (Ramon y Cajal's doppelte Methode.)

1. Einlegen in das Golgi'sche osmiobichromische Gemisch,
   1 % Osmium . . . . . 1 Theil,
   3,5 % Kali bichrom. . . . . 4 Theile,
   auf 24 Stunden und mehr.
2. Imprägnation 24 Stunden lang in 1procentiger Lösung von salpetersaurem Silber.
3. Neues Eintauchen in eine schwächere Osmiobichromlösung,
   1 % Osmium . . . . . 1 Theil,
   2,5 % Kali bichrom. . . . . 10 Theile.
4. Abermalige Behandlung während 24 Stunden mit der Silberlösung.

Für manche Objekte (Retina) ist es gut, dieselben bei der Einbettung etwas länger ($^1/_2$ Stunde) in der Celloidinlösung zu lassen.

---

[1]) Celloidin in Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen.

Ramon y Cajal's doppelte Methode, modificirt von Kölliker.

1. Aufbewahren der frischen Stücke im Dunkeln für 24—48 Stunden in einer Lösung von

   Kalium bichromic. . . . . 3 Theile
   1procentiger Osmiumsäure . . . . . 25 „
   Aq. destill. . . . . 100 „

   Nach einigen Stunden wird die Flüssigkeit erneuert, sie kann jedoch noch für die weiteren Stücke als erste Lösung gebraucht werden.
2. Abspülen $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang in 0,25procentiger Höllensteinlösung.
3. Einlegen für 36—48 Stunden in eine 0,75procentige Höllensteinlösung.
4. Auswaschen in 40procentigem Alkohol.
5. Kurzes Entwässern in absol. Alkohol.
6. Schneiden zwischen Hollundermark mit der Hand.

Paraffin- und Celloidineinbettung und Deckgläser sind zu vermeiden.

Golgi'sche Methode nach Obregia[1]).

Das Verfahren macht die Präparate dauerhaft und gestattet, dieselben zu färben und unter Deckglas aufzubewahren.

1. Die nach Golgi behandelten Silber- oder Sublimatpräparate (erstere aus absolutem Alkohol) werden ohne oder nach Einbettung in Celloidin oder Paraffin geschnitten, wobei jedoch nur Alkohol von 95% und darüber (wenigstens bei Silberpräparaten) gebraucht werden darf.
2. Uebertragung der Schnitte aus absol. Alkohol in folgende Mischung:

   1procentige Goldchloridlösung . . . . 8—10 Tropfen,
   Alkohol absol. . . . . 10 cc,

   welche $^1/_2$ Stunde vorher angefertigt und dem diffusen Tageslicht ausgesetzt wird. In dieser Mischung bleiben die Präparate je nach der Dicke der Schnitte 15—20 Minuten im Dunkeln.

   Das Silber wird allmählich durch Gold ersetzt, das Quecksilber in Goldamalgam umgewandelt. Es treten dann schwarze zierliche Zeichnungen auf weissem Felde hervor.
3. Rasches Abspülen der Schnitte in 5procentigem Alkohol.
4. Abspülen in destillirtem Wasser.
5. Uebertragung der Schnitte auf 5—10 Minuten in eine 10procentige Lösung von unterschwefligsaurem Natron je nach der Dicke auf 5 bis 10 Minuten.
6. Wiederholtes Auswaschen in destillirtem Wasser.

Die Schnitte erlauben beliebige Färbung mit Karmin, Hämatoxylin, Behandlung nach Weigert und Pal, Aufhellen in Kreosot, Einschluss in Damar und Deckgläschen.

Während der Gold-Natronbehandlung dürfen die Schnitte nur mit Glas-, nicht mit Metallnadeln berührt werden.

---

[1]) Obregia A., Fixirungsmethode der Golgi'schen Präparate des Centralnervensystems. Virchow's Archiv. Bd. CXXII. 1890, pag. 387.
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII, Heft 1. 1891. S. 97.

Methode von Kallius[1]).

Kallius wandelt mit Hülfe photographischer Entwickler das hinfällige Chromsilber in metallisches Silber um.

Die Schnitte kommen auf mehrere Minuten:

1. in eine Mischung von
   a) käuflich. 5fachen Hydrochinonentwickler 20 ccm.
   Aq. destill. . . . . 230 „
   mit b) Alkohol absolutus im Verhältniss von 2 : 1—2.
2. Alkohol 70 % 10—15 Minuten.
3. Natr. subsulfuros. 10,0 : 50,0 Wasser für 5 Minuten.
4. Aq. dest. in grossen Mengen bis zu 24 Stunden.
5. Alkohol, Oel, Balsam, Deckglas.

Die Präparate vertragen ebenfalls Behandlung mit Reagentien und Deckglas.

Flechsig's[2]) Modification der Golgi'schen Methode, Färbung mit Rothholz.

Schwarze Färbung der Nervenzellen und ihrer Fortsätze mit Sublimat, Rothfärbung der Nervenfasern.

Flechsig combinirt die Golgi'sche Sublimatmethode mit einer Färbung des Marks durch Rothholz.

1. Härtung in 2procentiger Kali bichrom.-Lösung.
2. Härtung in Sublimat von 1 % ein Jahr lang.
3. Schneiden. Uebertragen der nicht über 0,05 mm dieken Schnitte in 96procentigen Alkohol.
4. Färben 3—8 Tage lang bei 35° in Rothholzextract[3]).
5. Abspülen in Wasser.
6. Behandlung nach Pal. Uebertragen jedes Schnittes in 3 ccm einer $^1/_4$—$^1/_5$procentigen Lösung von Kalium hypermanganieum so lange, bis die Lösung die blaue Farbe verloren hat.
7. Entfärben in einer Lösung von:
   Aeid. oxalie. 1,0,
   Kal. sulphuros. 1,0,
   Aq. destill. . . . . 200,0.
   Wiederholung der Proceduren 6 und 7, bis jeder gelbe Farbenton verschwunden ist.

---

[1]) Ein einfaches Verfahren, um Golgi'sche Präparate für die Dauer zu fixiren.
Anatomische Hefte 1892.

[2]) Flechsig P., Ueber eine neue Färbungsmethode des centralen Nervensystems und deren Ergebnisse bezüglich des Zusammenhanges von Ganglienzellen und Nervenfasern. Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiolog. Abth. 1889, mit 1 Tafel.

[3]) Extract von Jap. Rothholz . . . . . 1 gr,
Absol. Alkohol . . . . . 10 gr,
Destillirtes Wasser . . . . . 100 gr.
Gesättigte Lösung von Glaubersalz . 5 gr,
Weinsteinsäure . . . . . 5 gr.

8. Uebertragen der Schnitte in eine Mischung von
   1procentiger Goldchloridkaliumlösung . . 5 Tropfen,
   Alkohol absol. . . . . 20 ccm,
   bis die bei auffallendem Licht im Schnitt weisslich erscheinenden Sublimatniederschläge tiefschwarz geworden sind und die rothen Nervenfaserbündel einen bläulichen Ton angenommen haben.
9. Kurzes Abwaschen in
   5procentiger Lösung von Cyankali . . . 1 Tropfen,
   Aq. destill. . . . . 20 gr.
   Der Schnitt muss auf der Lösung schwimmen.
10. Alkohol absol., Lavendelöl, Canadabalsam.

Färbung des Centralnervensystems nach Ziehen[1].

Härten frischer Stückchen 3 Wochen und mehr in einer öfter zu wechselnden Mischung aus

1. 1procentiger Goldchloridlösung } gleiche Theile.
   1procentiger Sublimatlösung }
2. Schneiden auf Kork ohne Einbettung unter Alkohol.
3. Differenzirung in Lugol'scher Lösung (1 : 4 Alkohol) oder verdünnter Jodtinctur.
4. Gründliches Auswaschen in absolutem Alkohol, Nelkenöl, Canadabalsam.

Metallinstrumente mit Ausnahme des Mikrotommessers sind zu vermeiden.

Sowohl markhaltige wie marklose Fasern, Ganglien- und Gliazellen mit ihren Ausläufern werden blaugrau gefärbt.

Golgi's modificirtes Verfahren nach Cox.

Die Methode vereinigt Härtung und Sublimatfärbung.

1. Einlegen kleiner Stücke, im Winter 2—3, im Sommer 1 Monat in ein Gemisch von
   Kalibichromlösung, 5procentig 20,
   Sublimatlösung, 5procentig . . 20,
   Aq. destill. . . . . 30—40.
2. Der Mischung wird 5procentige Kalichromic. flav. Lösung (stark alkalisch) 10 Theile zugesetzt.

Schneiden mit dem Gefriermikrotom.

1. Einlegen der Schnitte 1—2 Stunden in 5procentiges Natrium-Karbonat- oder Ammoniaklösung.
2. Auswaschen.
3. Rasches Entwässern, Oel.
4. Einschluss in Sandarack . . . 75 Theile,
   „ „ Kampfer . . . 15 „
   „ „ Terpentin . . . 30 „
   „ „ Lavendelöl . . 22,5 „
   „ „ Absol. Alkohol 75 „
   „ „ Ricinusöl . . 5—10 Tropfen.

[1] Neurologisches Centralblatt. Bd. X. 1891, p. 65—68.

D. Markscheidenfärbung.

Die Färbung nach Weigert mit Hämatoxylinkupferlack.

Sie ist ein ausgezeichnetes Verfahren, welches wesentlich auf einer Färbung durch lackbildende Farbstoffe, welche mit Metallsalzen typische Verbindungen (Hämatoxylin-Kupferlack) eingehen, beruht. Diese Methode zerfällt in folgende Acte:

1. Härtung in Chromsalzen oder Formol und Chromsalzen.
2. Einführung des Kupfers in die Chromverbindung der Markscheiden.
3. Färbung mit Hämatoxylin.
4. Differenzirung durch Borax-Ferricyankalium.

Weigert hat das Hämatoxylin durch Lithion. carbonic. haltbarer und besser färbend gemacht und damit auch die Niederschläge, welche sich leicht im Hämatoxylin bilden, vermieden. Später hat er durch Umgehung der Differenzirung die Methode vereinfacht. Dann werden nur die Markscheiden gefärbt, die übrigen Gewebsbestandtheile bleiben entweder farblos oder werden blass gelblich, röthlich oder bläulich gefärbt.

Eine Abkürzung der Zeit für Markscheidenfärbung auf 4—5 Tage hat Weigert durch Zusatz eines Chromoxydsalzes (essigsaures, oxalsaures, schwefelsaures Chromoxydkalium) zur starken 5procentigen Bichromatlösung (Kalium-, Natrium- und Ammoniumbichr.) erzielt.

1. Härtung in 10procentigem Formol, 3—4 Tage.
2. Rasches Auswaschen.
3. Einlegen dünner Stücke 5 Tage lang in eine durch Kochen hergestellte und kalt filtrirte Lösung von

Kali bichromic.	5 Theile,
Chromalaun	2 „
Wasser	100 „

Nachhärten in Alkohol, Einlegen in Kupferlösung.

Gudden empfiehlt Einlegen der Schnitte in 0,55procentige Chromsäure 10 Stunden und Zusatz von einigen Tropfen Salpetersäure zur Weigert'schen Hämatoxylinlösung.

I. Färbung der Markscheiden nach Weigert[1]) mit Differenzirung.

1. Härtung in Müller-Erlitzky'scher Flüssigkeit (S. 49, 13) oder in Chromsäurelösungen[2]).
2. Nachhärtung in Alkohol ohne Abspülen in Wasser.
3. Einbettung in Celloidin.

[1]) Fortschritte der Medicin. Bd. II. S. 190. Bd. III. S. 236.

[2]) Die gehärteten Stücke müssen im Alkohol noch braun, nicht grün sein. In diesem Falle kommen sie für einige Minuten oder länger in eine $^1/_2$procentige Chromsäurelösung, die man nur oberflächlich abspült, worauf man sie sofort in die Farbe bringt. Auch in Müller'scher Flüssigkeit können die Schnitte für einige Zeit zurückgebracht werden.

4. Einlegen der auf Kork oder Holz geklebten Stücke auf 36—48 Stunden in eine zur Hälfte mit Wasser verdünnte gesättigte Lösung von Cuprum acetic. bei Brütofentemperatur von 37° C.
5. Kurzes Abspülen in Aq. destill.
6. Einlegen in 80procentigen Alkohol für 12—24 Stunden.
7. Schneiden.
8. Färben 20 Minuten bis 24 Stunden[1]) in einer Lösung von

   Hämatoxylin 1,
   Alkohol. absol 10,0,
   Destill. Wasser 90,
   Gesättigter Lösung von Lithion carbonic. . 1 ccm.

   Nach 24 Stunden ist die Lösung gebrauchsfähig. Ist sie nach mehreren Monaten dunkelbraungelb geworden, muss soviel Lithion carbonic.-Lösung zugegossen werden, bis die violette Farbe wieder hergestellt ist.

   Die Schnitte werden schwarz und undurchsichtig.
9. Abspülen in Wasser, eventuell können die Schnitte auch einige Stunden im Wasser bleiben.
10. Partielle Entfärbung in der Differenzirungsflüssigkeit: Borax-Blutlaugensalzlösung:

    Natron boracic. 2,0,
    Ferricyankalium 2,5,
    Aq. destill. . . . . 100,0.

    Meistens ist es besser, die Lösung auf die halbe Concentration zu verdünnen, weil man bei langsamer Differenzirung dieselbe besser in der Hand hat. Die Schnitte müssen, um eine Ueberdifferenzirung zu verhüten, controlirt werden. Bei stärkerer Verdünnung um das Zehnfache ist eine Controle der Schnitte überflüssig, da dann kaum eine Ueberdifferenzirung erfolgt.
11. Gutes Abspülen in Wasser.

    Sobald die graue Substanz graugelb geworden ist, keine Farbwolken mehr abgehen und keine schwarzen Flecke mehr in der weissen Substanz sind:
12. Entwässern in 96procentigem Alkohol, Karbolxylol, Origanumöl und Balsam.

Die Markscheiden färben sich schwarz, grauschwarz oder stahlblau, die Ganglienzellen erscheinen gelbbraun, die rothen Blutkörper bald schwarz, bald gelb, das übrige Gewebe gelb.

Collodionage hat keinen Einfluss auf die Färbung.

Für Kernfärbung Auswaschen der Schnitte nach vollendeter Differenzirung 10 Minuten in Wasser und Färbung mit Alaunkarmin.

---

[1]) Die Schnitte bleiben in der Hämatoxylinlösung verschieden lange, Rückenmark und peripherische Nerven $^1/_2$—2 Stunden, Grosshirn 12—24 Stunden, ebenso das fötale Nervensystem.

II. Färbung der Markscheiden nach Weigert[1]) ohne Differenzirung.

Bei dieser Methode werden die bei der Kupferung auf der Oberfläche der Stücke sich bildenden Niederschläge vermieden.

1. Härtung in doppeltchromsaurem Kali.
2. Nachhärtung in Alkohol ohne vorheriges Auswaschen in Wasser.
3. Celloïdineinbettung, Aufkleben.
4. Einführung des Kupfers in die Chromverbindung der Markscheiden durch Uebertragen in eine Mischung von kaltgesättigtem und filtrirtem neutralen Kupferacetat und 10procentiger Seignettsalzlösung[2]) in Wasser zu gleichen Theilen.
   Die Stücke schwimmen auf dieser Lösung im Brütofen 24 Stunden (grössere bis 48 Stunden).
5. Uebertragen der Stücke aufs Neue für 24 Stunden in einfache wässrige Lösung von neutralem Kupferacetat im Brütofen.
6. Oberflächliches Abspülen in Wasser.
7. Uebertragen auf $^1/_2$ Stunde bis $1^1/_2$ Stunden in 80procentigen Alkohol.
8. Schneiden.
9. Färben im Hämatoxylinlithiongemisch 4—5 bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur.
   Hierzu sind 2 Lösungen nöthig.
   A-Lösung[3]):
   Gesättigte wässrige Lösung von Lithium carbonic. . . . 7 cc,
   Aq. destill. . . . . 90 „
   B-Lösung:
   Alkoholische Hämatoxylinlösung,
   Hämatoxylin . . . 1 gr,
   Alkohol . . . . . 10 cc.
   Vor dem Gebrauch werden 9 Vol. von A mit 1 Vol. B gemischt[4]).
10. Abspülen in mehrmals erneuertem Wasser[5]).
11. Uebertragen in Alkohol von 90 %.
12. Uebertragen in Karbolxylol oder besser Anilinölxylol (2 Vol. Anilinöl, 1 Vol. Xylol), dann reines Xylol, endlich Xylolbalsam.

---

[1]) Weigert C., Die Markscheidenfärbung. Deutsche med. Wochenschrift. 1891. No. 42, pag. 1184—1186.

[2]) Tartarus natronatus, weinsaures Kali-Natron.

[3]) Lösung A darf nicht zu alt sein.

[4]) Man nehme reichliche Mengen der Flüssigkeit.
Die neue Farbstofflösung ist stärker alkalisch als die frühere, wirkt frisch hergestellt besser, während die frühere abgelagert sein musste.
Ohne Differenzirung lassen sich nur Schnitte von $^1/_{40}$ mm (0,025 mm) Dicke verwenden.

[5]) In derselben Schale, in welcher die Schnitte gefärbt wurden, ohne dieselben herauszunehmen. Die Farbstofflösung wird durch Wasser ersetzt. Das Anilinöl muss sorgfältig durch reines Xylol abgewaschen werden, wenn der Balsam sich nicht bräunen soll. Die Aufhellung mit Anilinölxylol und das Abwaschen des Anilinöls kann auch auf dem Objektträger vorgenommen werden, auf welchen die Schnitte direct aus Alkohol kommen.

Die markhaltigen Fasern erscheinen dunkelblau bis schwarz auf hellem Grund, der sich bald hellrosa färbt.

Das Randcelloidin wird manchmal hellblau, was aber nicht stört. Will man auch dies entfernen und den Untergrund der Fasern ganz hell haben (wie nach der Pal'schen Färbung, s. unten), dann tritt an Stelle des zweiten Waschwassers eine $^1/_5$—$^1/_2$procentige Essigsäure ($^1/_5$—$^1/_2$ Raumtheile gewöhnlicher Essigsäure auf 100 Wasser). Vor Benutzung des Alkohols wird die Essigsäure ausgewaschen. Bei sehr empfindlichen Präparaten (Grosshirnrinde) ist die Anwendung der Essigsäure zu vermeiden.

Das Collodium nimmt leicht bei dieser Nachdifferenzirung einen röthlichen Ton an.

Ist die Farbe zu dunkel, wird der Schnitt nach längerem Abspülen in Wasser auf einige Minuten in die gewöhnliche, um die Hälfte verdünnte Differenzirungsflüssigkeit Weigert's (Borax-Blutlaugensalzlösung, s. S. 267) gebracht. Dies ist besonders bei collodionirten Schnitten nöthig, weil das Collodium im Wasser die Farbe schlecht abgiebt. Abspülen in Wasser, Alkohol, Origanumöl oder Karbolxylol.

Hämatoxylinfärbung nach Pal[1]).

1. Vorbehandlung wie bei der Weigert'schen Färbung. Härtung in, Müller'scher Flüssigkeit, Nachhärten in Alkohol ohne Auswaschen, Einbetten in Celloidin.
2. Schneiden.
3. Färben in Hämatoxylinlösung etwas länger als bei dem Weigert'schen Verfahren, 1—2 Tage eventuell eine Stunde bei Brütofentemperatur.
4. Auswaschen in Wasser mit 1—3procentiger Lithion carbonic.-Lösung. Es geht wenig Farbe aus, die erst schwarzen Schnitte färben sich tief schwarzblau. Sobald der Schnitt gleichmässig gefärbt ist:
5. Uebertragen in eine $^1/_4$procentige Kali hypermanganic.-Lösung. Hier differencirt sich der Schnitt in $^1/_2$—5 Minuten, so dass die graue Substanz eine helle Farbe gewinnt.
6. Abspülen in Aq. dest.

Ist die Differenzirung nicht weit genug vorgeschritten, so bringt man den Schnitt kurze Zeit in die Kali hyperm.-Lösung zurück. Diese ist nur für wenige Schnitte zu brauchen und muss erneuert werden.

7. Einlegen für wenige Sekunden in eine Lösung aus gleichen Theilen

Kalium sulfuros.	1,0
Oxalsäure	1,0
Aq. destill.	200

[1]) Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Wien. med. Jahrbücher. Neue Folge 1886.

Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. IV. 1887. 192.

Das Verfahren bezweckt eine totale Entfärbung des Zwischengewebes, um dies dadurch der Einwirkung anderer Farbstoffe, Nachfärbung mit Pikrokarmin oder Boraxkarmin zugänglich zu machen.

Farbstoff geht ab. Der Schnitt wird hellgrauschwarz, die graue Substanz weiss. Bei nicht genügender Entfärbung behält das Präparat einen röthlich braunen Farbenton; die Differenzirung durch Kali hyperm. war dann zu kurz; man kann in diesem Fall die Schnitte durch Wasser in die Lösung zurückbringen.

8. Gründliches Auswaschen in Wasser.
9. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Nachfärbung mit Pikrokarmin oder Boraxkarmin.

Die einzelnen Proceduren können auch rascher vorgenommen werden.

1. Bei der Hanot'schen Modification der Pal'schen Methode bleiben die Schnitte 8—10 Minuten bei 40—45 ° in Lithionhämatoxylin.
2. Auswaschen.
3. Uebertragen in ein Gemisch aus 1—2 ccm 1procent. Osmiumsäure und 100 ccm Kupferacetat 65 pro Mille.
4. Abspülen.
5. Eintauchen für $^1/_2$ Minute in $^1/_4$procent. Lösung von Kaliumpermanganat.
6. Abspülen.
7. Differenziren in 10 Minuten in der Pal'schen Mischung von Oxalsäure und Kalium sulfurosum, s. oben 7.
8. Aufhellen, Einbetten.

Markscheidenfärbung nach Kulschitzky[1]).

Verf. sieht den Vorzug seiner Methode der von Weigert gegenüber darin, das bei ihr weniger Niederschläge von Chromsalzen sich bilden. Er wäscht zu dem Zweck nach der Färbung in Wasser aus.

1. Härtung in Erlitzki'scher Flüssigkeit (S. 49, 13) 1—2 Monate.
2. Auswaschen in fliessendem Wasser 1—2 Tage.
3. Härtung in Alkohol.
4. Einbettung in Celloidin oder Photoxylin.
5. Schneiden.
6. Färbung der Schnitte in saurer Hämatoxylinlösung 1—3—24 Stunden:
   1 gr. Hämatoxylin gelöst in wenig absol. Alkohol,
   2procentige Essigsäure 100 gr.
7. Entfärben 2—3 und mehr Stunden in
   gesättigter Lösung von Lithion oder Natron carbonic. . . . 100 ccm
   1procentiger Lösung von rothem Blutlaugensalz . . . . . 10 „
8. Auswaschen in Wasser.
9. Einschluss in Balsam.

Die markhaltigen Fasern erscheinen blau, die graue Substanz fast ungefärbt, grau oder weiss.

Kulschitzky's Karminfärbung der Markscheiden.

1. Härtung in Erlitzki'scher Flüssigkeit wie bei dem vorigen Verfahren.

---

[1]) Kulschitzky, N., Ueber die Färbung der markhaltigen Nervenfasern in den Schnitten des Centralnervensystems mit Hämatoxylin und Karmin. Anat. Anz. Bd. V. 1890. Nr. 18, p. 519—524.

2. Färben der Schnitte 2—4 Stunden in Essigkarmin.

Essigsäure, 10procentig 100 ccm
gepulverter Karmin . 2 gr

werden 2—4 Stunden gekocht. Nach dem Erkalten filtriren

3. Entfärben in

gesättigter Lösung von Lithion carbonic. mit rothem Blutlaugensalz, wie in dem vorigen Verfahren; die Entfärbung erfolgt rasch.

4. Destill. Wasser.
5. Alkohol, Oel oder Xylol, Kanadabalsam.

Färbung der Markscheiden nach Wolters[1]).

Das folgende Verfahren ist kürzer als dasjenige von Weigert.

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit im Dunkeln, Auswässern, Nachhärtung in Alkohol, Einbettung in Celloidin.
2. Schneiden und Uebertragung der Schnitte auf 24 Stunden in die 2procentige Hämatoxylinlösung von Kultschitzky[2]) bei 45°.
3. Eintauchen der Schnitte in Müller'sche Flüssigkeit.
4. Entfärben nach Pal zuerst in $^1/_4$procenttiger Lösung von Kali hypermangan. und hierauf in

Acidum oxalic.	1,0,
Kalium sulfuros.	1,0,
Aq. dest.	200,0

5. Abspülen in Wasser, Alkohol, Oel, Lack.

Intensive Markfärbung, Fasern blauschwarz, Umgebung hell, Ganglienzellen gelb und gelbbraun.

Ausser mit Müller'scher Flüssigkeit kann die Lackbildung auch durch einfach und doppelt chromsaures Kali, doppelt chromsaures Ammoniak, Natrium sulfurosum, Lithion carbonic. und Chromalaun erzeugt werden, doch giebt Müller'sche Flüssigkeit bessere Bilder.

Wolters findet an seiner Methode als Vorzüge

1. die Verwendung ausgewaschener Präparate,
2. den Wegfall der Kupferbeize,
3. die kürzere Zeit,
4. die Anwendung der Pal'schen Färbung.

---

[1]) Wolters, Drei neue Methoden zur Mark- und Achsencylinderfärbung mittelst Hämatoxilin.
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. 7. 1890. S. 466.

[2]) Hämatoxylin . . . . . 2 g.
Alkohol absol. . . . . .
q. s. ad. sol. . . . . .
Essigsäure, 2procentig. . . . 100 ccm.

Kaisers[1]) Schnellverfahren a) der Weigert'schen Hämatoxylinfärbung.

1. Härtung in Chromsalzen.
2. Auswaschen.
3. Nachhärtung in Alkohol.
4. Schneiden. Aufbewahren der Schnitte in Alkohol von 70%.
5. Einlegen auf 3—5 Minuten in 1procentige Lösung von Kali bichrom.
6. Abspülen in der Weigert'schen Hämatoxylinlösung:

   Hämatoxylin 1,
   Alkohol 10,
   Wasser 90,
   Lithion carb. gesättigte Lösung 1,

7. Allmähliches Erhitzen in Weigert's Hämatoxylin in einem Uhrschälchen über der Flamme, bis Blasenbildung eintritt.
8. Differenzirung nach Pal: Abspülen in Wasser, Einlegen in Solutio Kali hypermanganic. 0,25 procentig auf $^1/_2$ Minute und sodann in

   Acidum oxalic. . . . 1,
   Natrium sulfurosum 1,
   Wasser . . . . . 200.

In dieser Lösung bleiben die Schnitte, bis die graue Substanz braun bis hellgelb und die weisse Substanz dunkelgrau erscheint.

9. Abspülen in Wasser, Alkohol, Oel, Balsam. Dauer der Procedur 25 Min.

Kaiser's[2]) Schnellverfahren b) der Weigert'schen Eisenchlorid-Hämatoxylinfärbung.

1. Härten kleiner Stücke in Müller'scher Flüssigkeit (3 Tage). Die weiter zerschnittenen Stückchen kommen dann 6 Tage wieder in Müller.
2. Uebertragen in Marchi's Flüssigkeit (8 Tage).
3. Auswaschen, Alkohol, Celloidin, Schneiden.
4. Einlegen der Schnitte für einige Minuten in eine Mischung von

   Liquor ferri sesquichlorati . 1,
   Aq. destill. 1,
   Spiritus rectif. 3,

5. Einlegen in die Weigert'sche Hämatoxylinlösung, welche so oft erneuert werden muss, als sich noch ein dicker schwarzer Niederschlag bildet. Sobald die Schnitte nach wenigen Minuten schwarz geworden,
6. Abschwenken in Wasser.
7. Differenzirung nach Pal, S. 269. 5.

Tritt die Aufhellung in der Oxalsäurelösung nicht sofort ein, so kann man die Schnitte beliebig oft in die Kaliumpermanganatlösung zurückbringen, bis der gewünschte Farbenton erreicht ist.

---

[1]) Kaiser, Schnellverfahren der Weigert'schen Hämatoxylinfärbung und Eisenchlorid-Hämatoxylinfärbung. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. IX. 1893.

[2]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. IX. 1893.

8. Abspülen der Schnitte in ammoniakhaltigem Wasser.
9. Nachfärben $^1/_2$—1 Minute in

Fuchsin	0,1,
Spirit. rectif.	100,

oder 3—5 Minuten in Naphtylaminbraun . 1,

Spirit. rectif.	100,
Aq. destill.	200.

10. Nachbehandlung mit Alkohol, Oel etc.

Die markhaltigen Nervenfasern sind blau, die übrigen roth oder braun gefärbt. Noch tiefer blau werden die Markfasern, wenn man die Schnitte wie in der anderen Methode von Kaiser in der Hämatoxylinlösung erhitzt. Auch die Ganglienzellen können gut differenzirt sein.

Weigert'sche Färbung nach Vasale[1]).

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit oder doppelt chromsaurem Kali, Nachhärtung in Alkohol.
2. Färben der Schnitte 3—5 Minuten in einer frisch in der Wärme bereiteten Lösung von

Hämatoxylin . .	1 gr,
Wasser	100 gr.

3. Uebertragen auf 3—5 Minuten in gesättigte filtrirte Lösung von neutral. essigsaur. Kupfer. Die Schnitte werden schwarz.
4. Rasches Auswaschen in Wasser.
5. Uebertragen und Umrühren in einer Lösung von

Borax	2 gr,
Kali ferricy. (rothes Blutlaugensalz)	2,5,
Wasser	300,0.

6. Gutes Auswaschen in Wasser.
7. Alkohol absol., Karbol-Xylol (1 : 3), Abtrocknen mit Fliesspapier, Xylolbalsam.

Contrastfärbung durch Alaunkarmin, Pikrokarmin oder die Methode von Pal nach dem Auswaschen in Wasser.

Haug's Modifikation der Weigert'schen Färbung.

Färbt ausser dem Nervenmark auch die Ganglien- und Gliazellen.

1. Einlegen frischer Stücke des Markes von $^1/_2$—1 Centimeter Seite in eine gesättigte Lösung von neutralem essigsauren Kupfer 2 Tage.

---

[1]) Vasale. G., Una modificazione al metode Weigert per la colorazione dei centri nervosi.

Revista sperimentale de Freniatria e di Medicina legale Reggio Emilia. Vol. XV. 1889. p. 102—105.

Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. 7. 1890. S. 518.

Das Verfahren sucht die Weigert'sche Behandlung mit Lithionkarbonat zu umgehen. Ohne Lithionkarbonat gelingt die Färbung schwer, mit demselben wird das Hämatoxylin unbrauchbar und schwarz, die Schnitte sind schwer zu finden und werden brüchig.

2. Einlegen in eine gesättigte Lösung von Kaliumbichromat auf $1-1^1/_2$ Tage.
3. Leichtes Abspülen und Konserviren in 70procentigem Alkohol 36—48 Stunden.
4. Alkohol absol. 36 bis 48 Stunden.
5. Celloidin oder Paraffin.
6. Entfernung des Paraffins durch Terpentin oder Xylol.
7. Uebertragung der grünen Schnitte direkt aus dem Wasser, nicht aus Alkohol, auf $^1/_4-^1/_2$ Stunde in

   Hämatoxylin 1,0 : 30,0 Alkohol,
   Ammoniakalaun 1,0:300,0 Wasser.

   bis sie tiefschwarz (überfärbt) sind.
8. Uebertragen auf $^1/_4$ bis ganze Stunde in eine gesättigte Lösung von Lithion carbonic. und hierauf bei völligem Lichtabschluss in eine gesättigte wässrige Hämatoxylinlösung ohne jeden Zusatz für 1 Stunde.
9. Abspülen in Wasser und Differenziren des schwarzen Farbentons in

   Acidum mur. . . . . 0,5—1,0,
   Alkohol 70,0,
   Aqua 30,

   oder

   Acidum oxalic. 0,5,
   Natrium hyposulfurosum . . 0,1 (—0,25),
   Aqua . . . . . 100,0.

Bei Präparaten, die mit Eiweiss-Glycerin aufgeklebt sind, ist letztere Lösung nicht verwendbar.

In 15 Minuten ist die Differenzirung vollendet.

10. Zur Entfernung der Säure Waschen, bis die Schnitte blau oder blaugrau werden.
11. Gegenfärbung durch momentanes Eintauchen in unverdünnten neutralen Karmin oder in eine Karminlösung aus

    Wasser . . . . . 100 ccm,
    Magnesia carbon. 0,25,
    Liquor Amm. caustic. . 15—20 Tropfen.

Die Lösung wird erwärmt, decantirt, filtrirt und zu dem Filtrat 0,5 gr. Karmin gegeben.

12. Uebertragen der Schnitte in Alkohol.
13. Differenziren der grauen und weissen Substanz in der gewöhnlichen Borax-Blutlaugensalzlösung, mit 1 Tropfen reiner Salzsäure auf 1 Uhrschälchen zur Beschleunigung der Färbung.

Exner's Verfahren zur Darstellung markhaltiger Fasern.

1. Uebertragen der frisch oder 12 Stunden post mortem entnommenen, nicht über $^1/_2$ cm dicken Stückchen in 1procentige Osmiumsäurelösung, deren Volum mindestens das 10fache des zu färbenden Stückchens betragen muss.
2. Erneuerung der Osmiumsäure nach 2 Tagen.
3. Nach 5—6 Tagen Abwaschen in Wasser.

4. Aufkleben auf Kork oder Einbettung und Schneiden.
5. Untersuchung in Glycerin mit 1 Tropfen Ammoniakwasser (Liquor Ammon. caust. 1 : 50 Aq.)

Die markhaltigen Fasern erscheinen schwarz. Die Präparate sind nicht haltbar.

Methode von Adamkiewicz.

Adamkiewicz benutzt eine Eigenschaft des Saffranins, welches nur die normalen Markscheiden roth, die Kerne der Nerven-, Glia- und Gefässzellen violett färbt, während es die Markscheiden der erkrankten Fasern ungefärbt lässt.

1. Härtung in Lösungen der Chromsalze.
2. Uebertragen der Schnitte für kurze Zeit in Wasser, welches mit Salpetersäure schwach angesäuert ist.
3. Färbung in tiefrother Lösung von Saffranin Nr. O.
4. Abwaschen in Alkohol.
5. Uebertragen in schwach mit Salpetersäure angesäuerten Alkohol absolut.
6. Nelkenöl, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird. Kanadabalsam.

Methode von Adamkiewicz, modificirt durch Nikiforoff.

1. Härtung in Chromsalzlösungen.
2. Nachhärtung in Alkohol ohne Abspülen in Wasser.
3. Schneiden.
4. Uebertragung in Alkohol.
5. Färbung 24 Stunden lang in wässriger Saffraninlösung oder in Anilinwassersaffranin oder in 5procentigem Karbolwassersaffranin.
6. Vorsichtiges Auswaschen in Alkohol unter Hin- und Herschwenken, bis die graue Substanz durch hellere Färbung sich von der Marksubstanz abzuheben beginnt.
7. Uebertragung in Chlorgoldlösung 1 : 500, bis die graue Substanz eine leicht violette Farbe zeigt.
8. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.
9. Uebertragen in Alkohol absol., bis die graue Substanz durch reinviolette Färbung sich von der rothen Marksubstanz deutlich abgrenzt.
10. Kurzer Aufenthalt in Nelkenöl. Xylol. Kanadabalsam.

D. Achsencylinderfärbung.

Vielleicht mit Ausnahme der unsicheren Freud'schen Goldfärbung giebt es keine isolirte Färbung der Achsencylinder. Diese färben sich gleichzeitig mit den Ganglienzellen, den Gliaelementen etc. bei der Färbung mit Karmin, Säurefuchsin und Nigrosin etc.

Bei Härtung in Müller'scher Flüssigkeit, Auswaschen ohne Alkohol, Durchfärbung.

Karminfärbung der Achsencylinder.

a) Färbung der Achsencylinder und Zellen mit neutralem Karmin.

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit.
2. Auswasehen in Wasser oder direkte
3. Uebertragung in eine dünne Lösung neutralen Karmins[1]) für 14 Stunden.
4. Auswaschen.
   Ganglienzellen, Aehsencylinder und die Glia erscheinen roth.
5. Alkohol, Oel, Kanada.

Die Färbung wird beschleunigt und verstärkt durch 10 Minuten langen Aufenthalt der Sehnitte in Chlorpalladiumlösung (0,01 : 50), bevor sie mit Karmin gefärbt werden. Auch Erwärmen befördert die Färbung.

b) Mit Boraxkarmin oder Lithionkarmin,

Die Schnitte werden in der Farblösung (s. Karmin) $^1/_4$ bis mehrere Stunden gefärbt.

Die Kerne der Ganglienzellen und andere Kerne, Aehsencylinder und Zwisehengewebe erscheinen gefärbt.

c) Urankarminfärbung nach Schmaus.[2])

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit (nicht auswaschen).
2. Nachhärtung in absol. Alkohol (im Dunkeln).
3. Färben wenige Minuten bis 12 Stunden in einer Lösung von

   Karminsaurem Natron . . . 1,0,
   Uranum nitric. 0,5,

   welche in einer Porzellanschale mit einander verrieben und mit 100 gr Aq. destill. gelöst werden. Die Lösung wird $^1/_2$ Stunde gekoeht und während des Koehens öfters Aq. destill. zugefügt. Erkalten und Filtriren. Die Lösung bleibt an der Luft und muss sehimmeln[3])
4. Auswaschen in Wasser etc.

Auch für eollodionirte Schnitte.

$^1/_2$% Acid. carbol. macht die Farblösung haltbarer.

c) Cochenillealaunfärbung nach Czokor.

Cochenille	1,0,
Alaun	1,0,
Destill. Wasser . .	100,0.

---

[1]) Siehe Karmin.

[2]) Schmaus, Technische Notizen zur Färbung der Achseneylinder im Rückenmark, siehe Münchener med. Wochenschrift 1891, No. 8, 24. Febr., Seite 147. — Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII, Heft 2. 1891. Seite 230.

[3]) Urankarmin eignet sieh auch für andere Präparate als diffuse Grundfärbung bei Kernfärbung mittelst Hämatoxylin. Auch Intereellularsubstanzen werden gefärbt. Knoehenpräparate werden 24 Stunden gefärbt und mit Salzsäurealkohol ausgezogen.

Werden erwärmt und bis auf das halbe Volumen eingekocht.
Färbung 24 Stunden lang.
Auswaschen in Wasser.
Die Achsencylinder erscheinen roth, die Kerne mehr violett.

Blaufärbung nach Schmaus.[1])

Englisches black-blue (von A. Grübler in Leipzig) 0,25 %, Alkohol von 50 % mit etwas Pikrinsäurezusatz.

Färbungsdauer 1 Stunde. Celloidin bleibt ungefärbt, während es von der wässrigen Lösung stark gefärbt wird. Die Färbung ist auch verwendbar bei Schnitten, die für die Weigert'sche Färbung schon mit Kupfer behandelt sind.

Methylenblaufärbung nach Sahli.

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit.
2. Färben der Schnitte 10 Minuten oder mehrere Stunden in einer Mischung von
   gesättigter wässriger Methylenblaulösung . . . 24,0.
   Destillirtem Wasser 40,0,
   5procentiger Boraxlösung . . . . . 16,0.
3. Auswaschen in Wasser oder Alkohol, bis sich die graue Substanz hell von der tiefblau gefärbten Marksubstanz abhebt.
4. Cedernöl, Kanadabalsam.

Die Markscheiden werden tiefblau, die Ganglienzellen leicht grünlich, die Gliakerne blau. Eignet sich auch zum Nachweis gleichzeitig vorhandener Bakterien. Die Präparate sind haltbar.

Anilinblau-Saffranin-Färbung nach Stroebe.[2])

Für Färbung der Achsencylinder und Markscheiden

1. Härtung der Präparate in Müller'scher Flüssigkeit 4—5 Monate oder kürzere Zeit im Thermostaten wie bei dem Weigert'schen Verfahren.
2. Nachhärten (ohne Auswaschen) in Spiritus, Alkohol absol., Einbetten in Celloidin.
3. Färbung der (möglichst dünnen) Schnitte in einer ziemlich frischen gesättigten wässrigen Anilinblaulösung 10 Minuten bis 1 Stunde. Die Schnitte werden schwarzblau.
4. Gutes Abspülen in Wasser.
5. Differenziren der Schnitte in Alkohol absol., dem 20—30 Tropfen eines 1procentigen Aetzkali-Alkohols[3]) zugesetzt sind. In dem Aetzkali-Alkohol werden die Schnitte in 1 bis mehreren Minuten hellbraunroth und durchscheinend.

---

[1]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. VII. 1891. S. 230.

[2]) Centralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie. Bd. II. 1893.
Ziegler's Beiträge z. patholog. Anatomie und Allg. Pathologie. Bd. XIII. 1893.

[3]) Bereitung des Aetzkali-Alkohols: 100 ccm Alkohol absol. werden mit 1 gr. Kali causticum versetzt und nach 24 stündigem Stehen filtrirt.

6. Uebertragen der Schnitte in eine grosse Menge destill. Wassers für 5 Minuten. Die Schnitte färben sich jetzt hellblau.
7. Gegenfärbung in concentrirter wässriger Saffraninlösung, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.
8. Rasches Ausziehen des überschüssigen Saffranins in Alkohol absol.
9. Origanumöl, Xylol, Xylolkanada.

Die Achsencylinder sind tiefblau, die Markscheiden gelbroth, die Kerne dunkelroth, das Zellprotoplasma und Grundsubstanz hellroth. Bei längerer Extraktion bleibt die rothe Farbe nur in den Kernen und die blaue der Achsencylinder erhalten.

Goldfärbung der Achsencylinder nach Gerlach.

1. Härtung in einer 1—2procentigen Lösung von doppelt chromsaurem Ammoniak.
2. Einlegen in eine mit Salzsäure leicht angesäuerte Lösung von Goldchloridkalium 1 auf 10,000, 10—12 Stunden lang.
3. Waschen der Schnitte in $^1/_2$—$^1/_3$procentiger Salzsäure.
4. Einlegen in Alkohol von 60% mit 1% Salzsäure 10 Minuten lang.
5. Absoluter Alkohol.
6. Nelkenöl, Kanadabalsam.

Erst nach einigen Stunden treten die Achsencylinder und Ganglien scharf hervor; das Verfahren ist nicht sehr sicher, und die Präparate dunkeln nach.

f) Goldfärbung nach Freud.

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit.
2. Färben 3—5 Stunden lang in einer Lösung von

Goldchloridlösung	1%	zu gleichen
Alkohol von	95%	Theilen

3. Abspülen in Wasser.
4. Uebertragen auf 2—3 Minuten in

Natronlauge	1,0,
Aq. destill.	6,0.

5. Abwaschen in Wasser.
6. Einlegen auf 5—15 Minuten in 10procentige Jodkaliumlösung.
7. Abwaschen, Alkohol, Kanada.

Die Methode ist nicht zuverlässig. Die Nervenfasern sind dunkelblau oder dunkelroth und die Markscheiden manchmal mitgefärbt.

Färbung nach Upson.[1])

1. Härtung in 1procentiger, dann in 2procentiger und endlich 2,5procentiger oft zu wechselnder Lösung von Kali bichrom. in Aq. destill. (im Dunkeln) 4—6 Monate. Ueberhärtung ist zu vermeiden.
2. Rasches Abspülen in Aq. dest. Uebertragen für 2—3 Tage in öfter zu wechselnden 50procentigen Alkohol.

---

[1]) Mercier, Die Upson'schen Methoden für Achsencylinder- und Zellen-(Gold-) Färbung. Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie und wissenschaftliche Technik. Bd. VII, 1890. S. 474.

3. Uebertragen in 95procentigen Alkohol[1]), bis die Stücke eine deutlich grüne Farbe zeigen. In der Regel tritt dies nach 2—4 Wochen, mitunter auch später ein.
4. Eventuell Celloidineinbettung, Schneiden.[2]).

Färbung der Schnitte 2 Stunden in einer Lösung von

Goldchlorid	1,0,
Aq. destill.	100,0,
Salzsäure	2.

6. Abspülen der gelbgefärbten Schnitte in Aq. dest.
7. Uebertragen auf $^1/_2$ Minute in eine frisch bereitete Lösung von 10procentigem Kali, 5 ccm.
8. Sorgfältiges Auswaschen in Wasser.
9. Reduktion in einer für jeden Schnitt frisch zu bereitenden Lösung von

Acidum sulfuricum	5 cc,
Tinctura Jodi, 3procentig .	10—15 Tropfen,
Mischen und Hinzufügen von	
Liquor ferri chlorici . . .	1 Tropfen.

10. Auswaschen in Wasser, sobald der Schnitt eine schöne rosarothe Farbe zeigt.
11. Alkohol absol. 5—15 Minuten, Nelkenöl, Kanadabalsam etc.

Die Präparate sind im Dunkeln aufzubewahren. Die Schnitte dürfen mit keinem anderen Metall als Platin (Platinspatel) und Glasnadel in Berührung kommen.

Säurefuchsinfärbung.

Bei dieser Färbung werden Ganglienzellen und deren Ausläufer, Achsencylinder und Glia gefärbt. Das Verfahren hat gegenüber der Karminfärbung den Vorzug, dass es die Nachhärtung der in Müller'scher Flüssigkeit conservirten Stücke in Alkohol und damit auch die Celloidineinbettung gestattet, wodurch nicht nur dünnere Schnitte, sondern auch solche durch erkrankte (erweichte) Partien gewonnen werden können.

Die Schnitte der in Alkohol nachgehärteten, in Celloidin eingebetteten Stücke werden in die Säurefuchsinlösung getaucht, ausgewaschen, in Alkohol noch entfärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Färbung nach van Gieson S. 177.

Achsencylinder braunroth bis roth, Markscheide gelb, Kerne blauroth, Glia- und Ganglienzellen roth, das sklerotische Gewebe leuchtend roth. Die Differenzirung ist in Präparaten, die in Müller'scher Flüssigkeit conservirt wurden, besser als in Formol- oder Alkoholpräparaten. Die gelben Markscheiden treten besser hervor.

Nigrosinfärbung der Achsencylinder.

1. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit.
2. Auswaschen, Conservirung in Alkohol eventuell Celloidineinbettung.

[1]) Der 50- und 95procentige Alkohol wird mit absol. Alkohol hergestellt.
[2]) Die Schnitte können eventuell in 80procent. Alkohol aufbewahrt werden.

3. Färbung der Schnitte in concentrirter wässriger Nigrosinlösung 5—10 Minuten.
4. Auswaschen.
5. Alkohol von 96%. Ol. Origani eretic. oder Ol. Bergamottae etc.

Ganglienzellen und ihre Ausläufer, Achsencylinder und Neuroglia erscheinen graublau. Wegen der gleichzeitigen Färbung der Glia tritt die Zeichnung der nervösen Elemente nicht sehr scharf hervor.

Nigrosin-Saffranin-Färbung nach Spaink[1])

1. Nigrosin	1,	2. Saffranin	1,
Aq. destill.	90,	Alkohol absol . . .	200.
Alkohol absol.	10,	Aq. destill.	100.

werden gekocht.

3. Beide Mischungen werden mit Alkohol absol. im Verhältniss von 3 : 1 : 1 gemischt.

Nach drei oder mehrtägiger Einwirkung erscheinen Achsencylinder. Kerne und Grenzen des Myelins sehr scharf.

4. Alkohol absol., Cedernöl, Kanadabalsam.

Eisenchlorid-Dinitroresorcinfärbung.[2]) Siehe peripherisches Nervensystem S. 283.

Phosphor-Molybdänsäure-Hämatoxylinfärbung nach Mallory.[3])

Phosphormolybdänsäure 40proc.	1 Theil,
Hämatoxylin	1 „
Wasser	100 Theile,
Chloralhydrat	6—10 „

Die Lösung lässt man eine Woche im Sonnenlichte reifen. Vor dem Gebrauch wird filtrirt.

1. Färbung der Schnitte 10 Minuten bis 1 Stunde.
2. Abspülen in 2—3 mal gewechseltem 40—50procentigem Alkohol.
3. Entwässern etc.

Die gefärbten Schnitte dürfen in Alkohol höchstens wenige Stunden bleiben, da sonst die Färbung an Schärfe verliert. Ein Ueberschuss an Hämatoxylin giebt die besten Resultate.

Das Celloidin wird entfärbt, die histologischen Elemente sind tiefblau.

---

[1]) Spaink, P. F., Ueber die Einwirkung reinen Alkohols auf den Organismus und insbesondere auf das peripherische Nervensystem. Moleschotts Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen und der Thiere. Bd. XIV, No. 5. 1891. p. 449—514.

Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und wissenschaftliche Technik. Bd. VIII, Heft 4. 1892. S. 518.

[2]) Dr. Th. Beer, Ueber die Verwendbarkeit der Eisenchlorid-Dinitroresorcinfärbung für das Studium der Degeneration peripherer Nerven.

Arbeiten aus dem Institut für Anatomie und Physiologie des Centralnervensystems an der Wiener Universität von Prof. Heinr. Obersteiner. Leipzig-Wien. Franz Deuticke. 1892.

[3]) Anat. Anzeiger Bd. VI, 1891, pg. 375—376. Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII, Heft 3. 1891. S. 341.

Durch dieses Verfahren werden Ganglienzellen, Achsencylinder und Gliazellen des Centralnervensystems gefärbt.

Nach Schiefferdecker[1]), welcher die Färbung an Müller'schen Präparaten erprobt, giebt die Färbung gute Bilder, doch treten die Achsencylinder nicht so scharf wie bei der Wolters'schen Färbung hervor.

Vanadium-Hämatoxylinfärbung nach Wolters.

1. Härtung 24 Stunden nach Kulschitzky im Dunkeln in
   doppelt chromsaurem Kali } ad libitum,
   schwefelsaurem Kupferoxyd }
   50procentigem Alkohol mit
   5—6 Tropfen Essigsäure auf 100 ccm.
2. Uebertragung in starken Alkohol 12—24 Stunden.
3. Einbettung in Celloidin.
4. Schneiden (Schnittdicke 5—10 Mikren).
5. Beizen in:
   Vanadium chlorat. 10procentig 2,0,
   Ammonium acetic. liquid. 8proceutig . 100,0.
6. Auswaschen in Wasser 10 Minuten.
7. Färben 24 Stunden auf dem Paraffinofen in der 2procentigen Hämatoxylinlösung Kulschitzky's:
   Alkohol absol. q. s. ad sol. Hämatoxylin 2,0,
   3procentige Essigsäure . . . . . 100,0.
8. Entfärben in 80procentigem salzsäurehaltigen Alkohol, bis die Schnitte einen hellen, blaurothen Ton angenommen haben.
9. Entfernung der noch haftenden Salzsäure in schwachem Alkohol.
10. Entwässern in Alkohol absol., Origanumöl, Balsameinschluss.

Tief dunkelblaue Färbung der Ganglienzellen und ihrer protoplasmatischen Ausläufer, Färbung der Achsencylinder und der Gliazellen.

E. Färbung der Neuroglia.

Bedarf es keiner ausschliesslichen Gliafärbung, so reicht die Färbung nach van Gieson, meistens (bei multipler Sklerose), die Färbung nach Kulschitzky, nach Mallory, das Verfahren von Beneke, (Modifikation der Weigert'schen Fibrinfärbung) aus; für distinkte Färbung steht Weigert's Methode obenan.

Färbung nach Kulschitzky.

1. Härtung in dessen Lösung[2]) im Dunkeln.
2. Alkohol (96%) ohne Auswaschen; Paraffineinbettung, Schneiden.
3. Färben der dünnen Schnitte einige Sekunden in
   Patent Säurerubin 0,25,
   Gesättigte Pikrinsäurelösung
   2procentige Eisessiglösung . . . . . aa 100,0.

[1]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. VIII.

[2]) Gesättigte alkoholische (50procentige) Lösung von Kali bichrom. und Cuprum sulfuric., der vor dem Gebrauch 6 Tropfen Eisessig auf 100 ccm der Lösung zugefügt werden. — Die Lösung ist dunkel aufzubewahren.

Die Neuroglia wird röthlich violett; die Nervenelemente erscheinen erst bei längerer Färbung gelb röthlich.

Färbung der Gliafasern nach Mallory.

1. Härtung kleiner Stücke in 10procentiger Formalinlösung 4 Tage.
2. Uebertragen in gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung 4 Tage.
3. Uebertragen 4 bis 7 Tage in 5procentige Lösung von doppelt chromsaurem Ammonium.
4. Alkohol.
5. Celloidin.
6. Färbung nach Weigert's Fibrinmethode mit gleichen Theilen Anilinöl und Xylol.
7. Xylol, Balsam.

Zur Kontrastfärbung Beimengung von etwas Fuchsin zu dem Anilinöl-Xylol.

Weigert's specifische Gliafärbung.

1. Fixirung und Beizung in essigsaurer Kupferoxydchromalaunlösung mit Formol: 8 Tage.
2. Vorbereitung der Schnitte zum Schneiden (Celloidinmethode) 3 Tage.
3. Anfertigung der Schnitte.
4. Reduktion durch Kalium hypermanganicum und Chromogenlösung mit schwefliger Säure.
5. Verstärkung der Färbbarkeit für die Neuroglia und Kontraktfärbung der nervösen Elemente durch einfach wässrige Chromogenlösung.
6. (Modificirte) Fibrinmethode.

3 bis 6 dauern einen Tag und die sämmtlichen Proceduren 12 Tage.

1. Fixirung und Beizung der $^1/_2$ cm hohen Stücke mindestens 8 Tage bei Zimmertemperatur in einer durch Kochen hergestellten[1]) Kupferoxyd-Chromalaunlösung.

   Chromalaun . . . . . 2,5 Theile,
   Wasser . . . . . 100 „

   Sobald die Lösung kocht, wird die Flamme ausgedreht und zugesetzt
   gewöhnliche Essigsäure . . . . . 5 Theile,
   fein gepulv., neutrales essigsaures Kupferoxyd 5 „

   Nach starkem Umrühren und Erkalten Zusatz von:
   Formol . . . . . 10 Theile.
2. Abspülen in Wasser, Alkohol, Celloidin, Schneiden.
3. Reduktion.

   Einlegen der Schnitte auf etwa 10 Minuten in eine circa $^1/_3$procentige Lösung von Kalium hypermanganic.; nach vorsichtigem Ab-

[1]) Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuroglia. Frankfurt a. M. 1895.

giessen dieser wird Wasser aufgeschüttet, dieses dann abgegossen und folgende Reduktionsflüssigkeit zugefügt:

Chromogen (Höchster Farbwerke)	5 Theile,
Ameisensäure	5 „
Wasser	100 „

Man filtrirt und setzt vor dem Gebrauche zu 90 cc der Flüssigkeit, 10 cc einer 10procentigen Lösung des in der Photographie gebräuchlichen Natriumsulfits (einfach schwefligsaures Natron).

Bereits nach einigen Minuten sind die durch das übermangansaure Kali gebräunten Schnitte entfärbt, sie bleiben aber zweckmässiger 2 bis 4 Stunden in der Lösung.

4. Färbung der 0,02 mm dicken Schnitte auf dem Objektträger[1]) durch Auftropfen einer heissgesättigten und nach dem Erkalten vom Bodensatz abgegossenen alkoholischen Lösung (70—80procentigem Alkohol) von Methylviolett, eventuell für grössere Haltbarkeit der Präparate mit Zusatz von 5 cc einer 5procentigen wässriger Oxalsäure auf je 100 cc.
5. Aufträufeln der Jodjodkaliumlösung (gesättigte Jodlösung in 5procentiger Jodkaliumlösung) auf den gefärbten und abgetrockneten Schnitt.
6. Entfärben in einem Gemisch von Anilinöl-Xylol 1 : 1.
7. Sorgfältiges Auswaschen in reinem Xylol, zur gänzlichen Entfernung des Anilinölxylols.
8. Kanadabalsam oder auf dem Objektträger erwärmter Bernsteinlack. Die Präparate bleiben 2 bis 5 Tage in diffusem Tageslicht.

Im Falle die Präparate nach anderen Methoden (Marchi, Golgi, Nissl, Markscheidenmethode) behandelt werden sollen, trennt man die Fixirung von der Beizung, indem man die Stücke in 10procentigem Formol 24 Stunden fixirt, dann die Lösung erneuert; die Schnitte sind nach 3—4 Tagen hart, können aber noch länger in Formol bleiben. Dann Uebertragen in Beize 1 ohne Formol.

Die Neurogliafasern färben sich blau, das Bindegewebe bleibt ungefärbt. Will man auch dieses gefärbt erhalten, (blau mit einem Stich ins Violette), womit zugleich eine dunklere Färbung der Neurogliafasern und eine gelbliche Färbung der Ganglienzellen, der Ependymzellen und groben Achsencylinder erreicht wird, bringt man die Schnitte nach Abgiessen der Reduktionsflüssigkeit und nach zweimaligem Aufgiessen von Wasser über Nacht in eine einfache, gesättigte, wässrige filtrirte Chromogenlösung, die man durch Auflösen von 5 Theilen Chromogen in 100 Theilen Aq. destill. erhält. Nach zweimaligem Aufgiessen von Wasser Färbung.

Präparate, deren Färbung nicht sogleich nach der Reduktion vorgenommen werden kann, können auf Tage in 90 cc 80procentigen Alkohols mit 10 ccm 5procentiger Oxalsäurelösung aufbewahrt werden. In Wasser und verdünntem Alkohol leidet die Färbbarkeit.

---

[1]) Um die Schnitte faltenlos auf dem Objektträger auszubreiten, fängt man sie mit dem sorgfältig durch Alkohol gereinigten Objektträger aus dem Wasser auf.

Färbung nach Beneke (Weigert's modificirte Fibrinfärbung).

1. Härtung in Alkohol, Einbetten in Paraffin.
2. Schneiden, Entfernung des Paraffins auf dem Objektträger.
3. Färben in wässriger Anilingentianaviolettlösung 10 bis 20 Minuten.

   Anilin 10,0
   Aq. destill. 100,0

   Nach dem Filtriren Zugabe von concentrirter alkoholischer Gentianaviolettlösung 5 bis 10 Tropfen.
4. Abwaschen, Lugol'sche Lösung (Jod 4, Kali jodat. 6, Aq. destill. 100) 1 Minute.
5. Abtrocknen mit Fliesspapier.
6. Anilinxylol (2 : 3)[1]. Die violette Farbe schwindet.
7. Xylol, Balsam.

Gliazellenfasern blauviolett resp. röthlich, Nervenelemente mit Ausnahme der Zellkerne ungefärbt.

F. Peripherisches Nervensystem.

Die Behandlung ist im Allgemeinen dieselbe wie beim Centralnervensystem. Frische Präparate werden in einer indifferenten Flüssigkeit in toto (Membranen) oder an Zupfpräparaten studirt.

Die Ranvier'schen Einschnürungen treten besonders deutlich an Präparaten hervor, die mit 1procentiger Osmiumsäure mehrere bis 24 Stunden behandelt und nach sorgfältigem Auswaschen mit destillirtem Wasser nach Zusatz von etwas Glycerin zerzupft wurden.

Auch Silbersalpeter ist für Darstellung der Ranvier'schen Einschnürungen geeignet. Ein kleines Stückchen eines Nerven kommt nach Längsspaltung oder nach Spaltung des Perinecurium für kürzere Zeit oder mehrere Stunden in eine 0,2 bis 1procentige Lösung von Argent. nitric. Dann Auswaschen in Aq. destill. Zerzupfen in Wasser mit etwas Glycerin.

Auch durch verdünnte Fuchsinlösung lassen sich nach mehrstündiger Einwirkung und Auswaschen die Ranvier'schen Schnürringe gut demonstriren.

Die Lantermann'schen Segmente treten an frischen, in Kochsalzlösung zerzupften Nerven hervor.

Für Schnitte empfiehlt sich Härtung in Müller'scher Flüssigkeit oder Formol. Die Nerven werden, um Krümmungen zu vermeiden, mit Igelstacheln auf Wachsplatten befestigt in die Härtungflüssigkeit gebracht. Nach 12—14 Tagen direkte Uebertragung in häufig zu wechselnden Alkohol von 96% (im Dunkeln). Färbung mit Pikrokarmin und dann Paraffinisirung oder umgekehrt. Die Achsencylinder erscheinen roth. Auch Celloidineinbettung liefert brauchbare Schnitte.

[1]) Bei der Weigert'schen Fibrinfärbung ist Anilin mit Xylol im Verhältniss von 2 : 1 gemischt.

Darstellung der Achsencylinder nach Ströbe.

Schnitte aus Präparaten Müller'scher Flüssigkeit kommen ½ bis 1 Stunde in gesättigte wässrige nicht zu alte Anilinblaulösung. Nach Abwaschen in Wasser Differenzierung in Alkohol mit 20 bis 30 Tropfen Aetzkalialkohol (1 gr Kali caustic. fus. 100 ccm Alkohol abs.). In letzterem werden die Schnitte rothbraun. Wenn keine Farbwolken mehr abgehen, wird abgespült, die Schnitte werden blau. Färbung in concentrirter wässriger halb mit Wasser verdünnter Saffraninlösung ½ Stunde, Alkohol, Xylol, Kanada.

Marklose Fasern werden frisch an Zupfpräparaten untersucht.

Für das Studium degenerativer Vorgänge dient das Verfahren von Marchi und die Fixirung nach Flemming.

Veränderungen der Achsencylinder werden an Flemming- und Sublimatpräparaten (Nötzel) studirt. Für den gleichen Zweck hat neuerdings Obersteiner das Eisenchlorid-Dinitroresorcinverfahren empfohlen:

1. Härtung der Nervenstämmchen 1 bis mehrere Tage in einer Lösung von

   Liquor ferri sesquichlor. . 1,0,
   Aq. destill. . . . . 4,0.

2. Auswaschen in Wasser, bis keine Reaktion mit Rhodankalium mehr erfolgt.
3. Uebertragen in eine Lösung von Dinitroresorcin in 75procentigem Alkohol im Ueberschuss für mehrere Wochen.
4. Entwässern, Einbetten, Schneiden.

Die Eisenverbindung des Dinitroresorcin färbt den Achsencylinder grün.

Die Methode scheint sehr geeignet, um die Degenerationsvorgänge im Nerven speciell im Achsencylinder wie dessen allmählichen Untergang im peripherischen Stück durchschnittener Nerven zu zeigen.

Auch in Flemming'scher oder Müller'scher Flüssigkeit gehärtete Präparate eignen sich für dieses Verfahren.

Nervenendigungen.

Für Darstellung der Nervenendigungen in frischen Muskeln reicht schon 1procentige Essigsäure aus, worin die Präparate unter Deckglas einige Stunden bleiben.

Vergoldung I. Löwit's Verfahren.

1. Einlegen kleiner Muskelstücke von 1 mm Stärke in Ameisensäure (1 : 2 destillirtes Wasser), bis sie durchsichtig geworden sind (1 Minute).
2. Uebertragen in eine 1procentige Goldchloridlösung ¼ Stunde; es tritt eine gelbe Färbung ein.
3. Uebertragen in die Ameisensäure auf 24 Stunden in der Dunkelheit.
4. Auswaschen der Stücke mit destillirtem Wasser. Zerzupfen auf dem Objektträger.

II. Kühne's Verfahren.

1. Ansäuern mit ½procentiger Ameisensäure.
2. Einlegen in 1procentiges Goldchlorid.

3. Reduktion durch 20—25procentige Ameisensäure in Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen gelöst.

III. Ranvier's Verfahren.

1. Einlegen der Stücke in frisch ausgepressten und durch Flanell filtrirten Citronensaft, bis sie nach einigen Minuten durchsichtig geworden sind.
2. Uebertragen der Stücke in eine 1procentige Goldchloridlösung auf 20 Minuten.
3. Kurzes Abspülen in destillirtem Wasser.
4. Uebertragen in schwach angesäuertes Wasser, 1 Tropfen Eisessig, 30 ccm Wasser, auf 24—48 Stunden am Lichte.

Bei Benutzung von $^1/_3$procentiger Ameisensäure an Stelle des Essigsäurewassers dunkeln die Schnitte weniger nach.

IV. Golgi's Verfahren.

1. Ansäuern mit $^1/_2$procentiger Arsensäure.
2. Einlegen in Goldchloridkalium.
3. Einlegen in 1procentige Arsensäure im Sonnenlicht.

Ausser der Goldmethode ist auch das Golgi'sche Chromsilberverfahren sowohl für Darstellung der motorischen wie der sensiblen Endigungen geeignet.

V. Verfahren von Mays.

Für Darstellung markloser Fasern und Nervenendigungen in Muskeln.

1. Einlegen der Organstücke in 5procentige Arsensäure, bis sie vollkommen gequollen sind.
2. Uebertragen für 20 Minuten in eine Mischung von

1procentiger Goldchloridkaliumlösung	4,0
2procentiger Osmiumsäure	1,0
0,5procentiger Arsensäure	20,0

3. Abspülen in Wasser.
4. Uebertragen in eine 1procentige Arsensäurelösung, worin die Theile auf dem Wasserbad bis 45° 3 Stunden lang der Sonne exponirt werde.
5. Aufhellen in einem Gemisch aus

Glycerin	20
Wasser	20
25procentiger Salzsäure	1,0.

Die Methylenblaumethode Ehrlich's. S. 66.

Das Verfahren dient insbesondere zur Darstellung der peripherischen Nerven und Nervenenden und der Ganglienzellen.

Die Farblösung wird dem lebenden Thiere sowohl wie dem frisch oder längere Zeit getödteten in die Blutbahn (Vene) oder Lymphraum (Frosch) gespritzt oder mit den Geweben ausserhalb des Körpers in Berührung gebracht.

1. Zur Injektion dient eine filtrirte 1—4procentige Lösung von rektifieirtem Methylenblau („rektificirtes Methylenblau zur vitalen Injektion" von Grübler in Leipzig) in physiologischer 0,7procentiger Kochsalzlösung.

Das Organ wird so lange der Luft ausgesetzt, bis eine blaue Tinktion sichtbar ist. Zur Orientirung entnimmt man kleinere Stücke oder betrachtet Theile des Organs bei schwacher Vergrösserung.

2. Sobald die grösste Intensität der Färbung erreicht ist (nach 5 Minuten bis 2 Stunden), wird das Präparat zur Fixirung der Färbung in einer vor dem Gebrauch filtrirten, kalt gesättigten wässrigen Lösung von pikrinsaurem Ammoniak, oder (für Schnitte) in einer kalt gesättigten alkoholischen Lösung von pikrinsaurem Ammoniak (20 Minuten bis 12 Stunden) oder durch Gefrieren gehärtet.

Im ersteren Falle wird zwischen Leber oder Hollundermark geschnitten und das Messer mit dem pikrinsauren Ammoniak befeuchtet.

Excidirte Gewebsstücke kommen zur Färbung in eine Flüssigkeit aus $^1/_{15}$—$^1/_{16}$ Procent Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung, der nach Bedarf (Auge) Glaskörper oder Humor aqueus zugefügt wird.

Die Präparate werden, bedeckt von einer grossen Schale, der Luft ausgesetzt. Bei dünnen Stücken ist die Tinktion nach 15—20 Minuten, bei dickeren in 2—12 Stunden vollendet.

Nach Absaugung des Methylenblaus Uebertragung der Stücke zur Fixirung in das pikrinsaure Ammoniak.

Schnitte und Zupfpräparate werden in verdünntem Glycerin (1 Theil auf 1 Theil Wasser, dem eine Spur von pikrinsaurem Ammoniak zugefügt ist) eingeschlossen.

Obgleich bei dieser Färbung auch noch Nervenzellen, Blutkörper (Kittsubstanz) gefärbt werden, treten doch die Nervenfasern, Ganglienzellen und Ausläufer und die Nervenendigungen deutlich hervor.

Zur Fixirung der mit Methylenblau tingirten Nerven braucht Dogiel[1]) ein Gemisch aus pikrinsaurem Ammoniak und Osmiumsäure

Pikrinsaures Ammoniak, gesättigt in Wasser	100 cc,
1procentige Osmiumsäurelösung	1—2 cc.

Die Präparate kommen auf 24 Stunden in dieses Gemisch und werden dann in Glycerin mit Wasser verdünnt gebracht.

Um für Schnittpräparate die Objekte hinreichend zu erhärten, ist ein stärkeres Gemisch nöthig,

Lösung von Ammoniumpikrat	25—30 cc,
1procentige Osmiumsäure	1—2 cc.

Das Präparat bleibt 24 Stunden in diesem Gemisch und wird nach Einbettung in Hollundermark, Leber oder gefroren geschnitten.

Dieses Gemisch hat den Vortheil, die Gewebe gut zu conserviren und zugleich die Markscheiden zu färben.

Apathy[2]) fixirt in Ammoniumpikrat; zum Einschluss der Methylenblau-

---

[1]) Dogiel, Ein Beitrag zur Farbenfixirung von mit Methylenblau tingirten Präparaten. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. 1891. Bd. VIII, Heft 1, S. 15.

[2]) Apathy, Behandlung des Nervensystems für histologische Zwecke. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikroskopische Technik. 1892. Bd. IX, Heft 1. S. 15 und ff.

präparate empfiehlt er Gummisyrup;[1]) da dieser hart wird, ist ein Umrahmen der Präparate mit Kittmasse überflüssig.

Lawdowsky benutzt als Lösungsmittel des Methylenblaus filtrirtes Hühnereiweiss mit der gleichen Menge 0,25procentiger Chlorammoniumlösung.

Membranöse Organe werden auf dem Objektträger angebreitet und mit einer $^1/_{15}$—$^1/_{20}$procentigen Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung betropft. Die Färbung der Nerven tritt nach 20—30 Minuten ein.

Dauerpräparate der Ehrlich'schen Methylenblaufärbung erhält Bethe durch 2—5stündige Fixirung der Stücke in einer auf 0^0—2^0 abgekühlten Lösung von

Ammoniummolybdat	1,0
Aq. destill.	10 ccm.
Wasserstoffsuperoxyd	1 ccm
Acid. hydroch. off.	1 Tropfen.

Bei Zusatz von Salzsäure entsteht ein Niederschlag, der sich beim Schütteln wieder löst. Mit Methylenblau injicirte Präparate kommen direkt in die Fixirungsflüssigkeit; in Methylenblau eingelegte Präparate werden zur Fixirung in 0,6procentiger Kochsalzlösung abgespült.

Nach Fixiren Auswaschen in Wasser, Alkohol, Xylol, Schneiden oder vorher Einbetten in Paraffin.

Ramon y Cajals Verfahren:

1. Fixirung nach Bethe.
2. Auswaschen in Wasser.
3. Uebertragen in eine Lösung aus Formol 40 ccm, Wasser 60 ccm, Platinchlorür 1procentig 5 ccm. Die Flüssigkeit härtet nicht nur, sondern macht zugleich die Verbindung des Molybdäns mit Methylenblau unlöslich.
4. Auswaschen.
5. Uebertragen für einige Minuten in $^1/_3$procentige alkoholische Lösung von Platinchlorür, Paraffineinbettung.

Dem Alkohol, in welchen die Schnitte gebracht werden, wird $^1/_3$procentiges Platinchlorür zugesetzt.

---

10. Kapitel.

Untersuchung der Haut.

Am besten eignet sich gehärtetes Material. Ganz frische Hautstücke werden in Alkohol absol. und Flemming'scher Lösung oder Müller'scher

[1]) Gummi arabic. in farblosen Körnern . . . . 50 gr,
Nicht kandirter Rohzucker . . . . . 50 gr,
Destillirtes Wasser . . . . . 50 gr.
Der auf dem Wasserbad bereiteten Lösung werden noch 5 Centigramm Thymol zugefügt.

Flüssigkeit conservirt. Diese Methoden reichen auch zum Theil für den Papillarkörper und die Cutis aus, doch sind für die Ermittelung feinerer Verhältnisse die Fixirmischungen anzuwenden.

Oberhautzellen, besonders die des Stratum Malpighi lassen sich zum Theil an gut conservirten Präparaten aus Müller'scher Flüssigkeit durch Zerzupfen isoliren. Frische Oberhaut wird durch kalt gesättigte, filtrirte Lösung von Panereatinum siccum bei 40° in 2 Stunden macerirt. Man erhält schöne Bilder der Riffzellen. Die in obiger Weise behandelten Stücke lassen sich in Glycerinwasser-Alkohol zu gleichen Theilen lange conserviren.

Für Darstellung der Faserung an den Epithelzellen Alkohol-Fixirung und Fibrin-Färbung nach Weigert. Concentrirte wässrige Lösung von Methylviolett 6B und concentrirtes Anilinwasser werden zu gleichen Theilen für jedesmaligen Gebrauch gemischt und die Schnitte auf dem Objektträger gefärbt, 5 Minuten Abspülen in Wasser, Behandlung mit Jodjodkaliumlösung (Jod 1,0, Jodkalium 3,0, Aq. destill. 300) 1 Minute, Abspülen in Wasser, Eintauchen in Alkohol, Ausziehen in Xylolanilin (Xylol 2, Anilin 1). Wenn kein Farbstoff mehr abgeht, Einschliessen in Xylolkanada.

An Osmiumpräparaten erscheint die äusserste Hornschicht geschwärzt, die nächste farblos, die folgende wieder schwarz — Stratum lucidum. Dieses enthält Tröpfchen einer öligen fettigen Substanz — das Eleïdin[1]) Ranviers, welche sich mit Alkanna, Osmiumsäure, Nigrosin, Pikrokarmin, aber nicht mit Hämatoxylin färben.

Die nächstfolgende Schicht, das Stratum granulosum in der Uebergangszone zwischen Horn und Stachelschicht, enthält in den Zellen feste Körnchen, die sich roth mit Pikrokarmin färben, aber besonders mit Hämatoxylin nach Differenzirung mit Eisessig intensiv blau werden. Sie färben sich mit den Pararosanilin-Jod-Methoden, niemals aber mit Alkanna und nicht mit Nigrosin. Diese Körner bestehen aus Keratohyalin. Ernst[2]) hält sie für zersprengte, auseinandergestobene Chromatintheilchen des Kerns.[3]) Neben den Keratohyalinkörnern finden sich in den Zellen der Körnerschicht, und aus dem Protoplasma entstanden, auch Klumpen von Keratin,[4]) die nach van Giesons[5]) Methode sich orangeroth färben.

Färbung des Keratohyalins nach Unna.

Ueberfärbung der Schnitte mit Hämatoxylin, Uebertragen auf 10 Sekunden in 0,5procentige Lösung von Kaliumpermanganat, Entfärben und

[1]) Vielleicht ein Glycerinfett.

[2]) Ernst, Ueber die Beziehung des Keratohyalins zum Hyalin. Virchows Archiv 130. 1893.

[3]) In Aether, Chloroform, Benzin sind sie unlöslich, in Alkalien, kohlensaurem Natron löslich.

[4]) Mit dem eigentlichen Hyalin hat das Keratin nichts zu thun.

[5]) Siehe hyaline Entartung 1.

Entwässern in Alkohol oder Uebertragen der in Hämateïn überfärbten Schnitte in 33procentige Lösung von Eisenvitriol 10 Minuten, hierauf Alkohol oder Eintauchen der überfärbten Schnitte in 10procentige Lösung von Eisenchlorid.

Nachweis der epiphytären Mikroorganismen im Horngewebe nach Unna.

Behandlung der Hornschuppe (Kruste, Commedo) mit starker Essigsäure. Man zerreibt mit einem anderen Objektträger die erweichte Masse und trocknet die beiden Objektträger rasch über der Flamme. Zur Entfernung des Fettes lässt man Aether-Alkohol über die Objektträger fliessen und tropft dann 2 Tropfen Borax-Methylenblaulösung (Borax, Methylenblaulösung (aa 1, Aq. destill. 100) auf den einen Objektträger, deckt ihn wieder kreuzweis mit dem anderen und hält die gekreuzten Objektträger 10—20 Minuten über die Flamme. Abspülen mit Wasser, Entfärben etc.

---

11. Kapitel.

Auge.

Frische des Präparates ist besonders für die Conservirung der Retina unerlässlich. Die Hauptconservirungs-Flüssigkeiten sind Müller'sche und Erlicky'sche Flüssigkeit, Sublimat, Pikrinsäure, Pikrinsäure-Sublimat, Flemming's Chromosmiumessigsäure, Osmiumsäure, Platinchlorid, Formol. in welche der Bulbus nach sorgfältiger Befreiung von Fett und perischeralen Gewebsmassen frisch auf Watte eingelegt wird. Besser ist es. ihn frei aufzuhängen. Nach Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit wird der Bulbus ausgewässert und in Alkohol von steigender Concentration nachgehärtet. Um die Lagerung der einzelnen Theile zu erhalten, ist Celloidineinbettung unerlässlich. Für Vorfärbung ist Beale'scher Karmin, Bismarckbraun, für Schnittfärbung Hämatoxylin und Karmin oder statt des letzteren Eosin anzuempfehlen.

Für Untersuchung einzelner Abschnitte kann man mit scharfem Rasirmesser Stücke des Bulbus excidiren und in Sublimat, Müller'scher Flüssigkeit, in Flemming's Chromosmiumessigsäure, Goldchlorid, Osmiumsäure (1procentig) fixiren. Einbettung in Celloidin oder Paraffin.

Falls nicht Serienschnitte durch den ganzen Bulbus und genaue Erhaltung der Lagerverhältnisse beabsichtigt sind, beschleunigen ein paar mit scharfem Messer geführte Schnitte in den Bulbus oder die quere Durchtrennung desselben mit Rasirmesser die Wirkung der Conservirungsflüssigkeit.

Die Linse lässt sich nur bei jungen Thieren nach Müller und Alkoholhärtung schneiden, bei Erwachsenen wird der Kern der Linse nicht genügend gehärtet. Für Isolirung der Linsenfasern eignen sich in Müller'scher Flüssigkeit, in $^1/_3$ Alkohol und Osmiumsäure conservirte Präparate.

Zur Härtung der Retina wird der Bulbus im Aequator mit einem schärfen Schnitt durchtrennt und in Verbindung mit Sclera und Aderhaut conservirt.

Der Glaskörper wird frisch, nach Zusatz von etwas Jodlösung, um die vorhandenen Bestandtheile leicht zu färben, oder nach Behandlung mit Müller'scher Flüssigkeit und verwandten Conservirungsmethoden untersucht.

Für Einbettung des ganzen Bulbus dient Celloidin, einzelne Theile lassen sich auch in Paraffin einbetten.

Mit Müller'scher Flüssigkeit (S. 47) wird im Dunkeln conservirt. In den ersten Tagen wird die Flüssigkeit 3—5 Mal gewechselt, bis sie sich nicht mehr trübt. Dauer der Härtung für einen Bulbus bei Zimmertemperatur 6 Wochen, im Brutschrank bei 30—40° 14 Tage. Auswaschen 1 Tag in fliessendem Wasser, dann Nachhärten in allmählich verstärktem Alkohol.

Erlicky's Flüssigkeit: Kali bichrom. 1 Procent, schwefelsaures Kupfer 0,5 Procent Aq. destill., härtet rascher wie die Müller'sche Flüssigkeit, in 10 Tagen bei Zimmertemperatur, in 4 Tagen im Brutschrank, jedoch nicht ohne Schrumpfung.

Wässrige Sublimatlösung, in der Wärme gesättigt (1 : 75), härtet den Bulbus in 12—24 Stunden. Hierauf gründliches Auswaschen in Wasser. Nach Eröffnung des Bulbus Einlegen in Alkohol mit etwas Jodtinktur. Es entsteht Quecksilberjodat. Ist nach 24 Stunden die weinrothe Farbe erblasst, Abgiessen des Alkohols, Aufgiessen von neuem Jodalkohol, und so fort, bis die weinrothe Farbe bleibt. Zusatz von reinem Alkohol mit steigender Concentration.

Pikrinsäure, concentrirt, wässrig härtet kleine Stücke in 24—48 Stunden, dann Alkohol von 70—80 %. Pikrinsäure-Sublimat (gesättigte wässrige Lösung) sowohl für kleine Stücke wie auch für ganze Bulbi. Erstere werden in 10—20, letztere in 24—30 Stunden gehärtet. Auswaschen in fliessendem Wasser 1 Tag, Einlegen in 70procentigen Alkohol. Das Quecksilber wird wie bei Sublimathärtung mit Jod entfernt.

Chromosmiumessigsäure s. S. 46, Osmiumsäure S. 43 (letztere bei Retinitis albuminurica), Platinchlorid (S. 53) fixirt in 24—48 Stunden, dann Auswaschen in Wasser, Alkohol in steigender Concentration.

Formol in 10procentiger wässriger Lösung härtet mit guter Erhaltung der äusseren Form für gröbere Präparate. Für die Linse ist es ungeeignet. Nach 12 bis 24 Stunden ohne auszuwaschen Nachhärtung in Alkohol. In der Verbindung mit Müller'scher Flüssigkeit als Orth'sche Mischung wird der Bulbus in 2—3 Tagen im Dunkeln gehärtet. Hierauf Auswaschen in fliessendem Wasser und nach 12—24 Stunden Alkohol von steigender Concentration.

12. Kapitel.

Gehörorgan, Geschmacksorgan, Geruchsorgan.

Gehörorgan.

Die Schnecke wird möglichst von überflüssigen Knochenmassen[1]) befreit, ihre Spitze eröffnet und das Präparat in 0,5procentige Osmiumsäure (5 ccm 2procentige Osmiumsäure in 15 ccm destillirten Wassers) auf circa 20 Stunden eingelegt. Hierauf wird das Präparat 1—2 Stunden in Wasser ausgewaschen und dann in Müller'scher Flüssigkeit drei Wochen gehärtet. Will man die Lamina spiralis von der Fläche untersuchen, bricht man vorsichtig die Wand des Kanals ab und trennt die Lamina spiralis los. Untersuchung in Glycerin. Auch Formol und Chromsalzlösungen wie Gemische dieser sind für Härtung zu empfehlen.

Schnitte durch das häutige und knöcherne Labyrinth. Man befreit das Labyrinth von der überflüssigen Knochenmasse und sucht an mehreren Stellen durch Oeffnungen von 1 qmm Durchmesser in der knöchernen Schnecke der Conservirungsflüssigkeit Zugang zu verschaffen. Hierauf wird das Präparat in circa 25 ccm destillirtes Wasser und 5 ccm der 2procentigen Osmiumsäure 24 Stunden gelegt. Dann wird $^1/_4$ Stunde in fliessendem Wasser ausgewaschen und in allmählich verstärktem Alkohol von 60% an nachgehärtet.

Hierauf Entkalkung mit Chlorpalladiumsalzsäure, Chromsalpetersäure, Chrom-Salzsäurepalladiumchlorür, Phloroglucin-Salzsäure.

Chlorpalladium-Salzsäure (Waldeyer):

Palladiumchlorid . . .	0,01,
1procentige Salzsäure . .	1000,0.

Phloroglucin-Salzsäure (Ferreri):

Phloroglucin	1,0,
Wasser	100,0,
Salzsäure	10,

Lösung in der Wärme. Nach dem Erkalten Zusatz von 200 ccm 70procentigem Alkohol. Wechsel der Flüssigkeit allwöchentlich. Dauer der Entkalkung 30—40 Tage für das menschliche Labyrinth.

Chrom-Salpetersäure (Katz):

Chromsäure	0,4 gr,
Salpetersäure	5 ccm,
Aq. destill.	100 ccm

für den Menschen, 10procentige Chromsäure für kleine Thiere. Dauer der Entkalkung 1, für den Menschen 3 Wochen.

---

[1]) Schnecken von Meerschweinchen und Fledermäusen liegen ziemlich frei und brauchen nicht erst aus der spongiösen Knochensubstanz herauspräparirt zu werden. Nach Eröffnung ihrer Gänge an einigen Stellen können sie sofort in die Conservirungsflüssigkeit gebracht werden.

Chrom-Salzsäurepalladiumchlorür (Katz):

Chromsäure	0,4 gr,
Salzsäure	10 ccm,
Aq. destill.	100 ccm,

1 Esslöffel $^1/_2$procentige Chlorpalladiumlösung für harte Knochen.

Die Schnecke eines Kindes bedarf über 100 ccm Flüssigkeit, welche öfter gewechselt wird. Nach der Entkalkung Auswaschen in fliessendem Wasser, Nachhärten in allmählich verstärktem Alkohol von 30% an, Schneiden. Die Schnitte werden in Hämatoxylin oder Pikrokarmin gefärbt und in Damar eingeschlossen. Will man das Corti'sche Organ vergolden, verfährt man im Ganzen bei Herstellung des groben Präparates wie oben. Bei kleinen Stückchen der Schneckengänge wirkt nicht nur die Conservirung besser ein, auch die Entkalkung nimmt weniger Zeit in Anspruch.

Geschmacksorgan.

Für Isolirung empfiehlt sich Conservirung in $^1/_3$ Alkohol, in Chromsäure und chromsaurem Kali, für Härtung längerer Aufenthalt in den genannten Lösungen und Fixirung in Flemming'scher Lösung, Osmiumsäure, Osmium-Salpetersäure. Für Mischungen mit Osmiumsäure empfiehlt sich Nachbehandlung in Holzessig. Für Darstellung der Nervenendigungen: Vergoldung, Golgi's und Ehrlich's Verfahren.

Geruchsorgan.

Für das Geruchsorgan finden im Allgemeinen die gleichen Methoden wie für das Geschmacksorgan Anwendung. Für Isolirung der Riechzellen ist jedoch $^1/_3$ Alkohol weniger geeignet, als die Conservirung in Chromsäure und chromsauren Salzen.

13. Kapitel.

Untersuchung des Blutes.

Das frische Präparat.

Für die Untersuchung wird ein Tröpfchen Blut aus einer kleinen Wunde sauber aufgefangen und mit Deckgläschen bedeckt. Die Schicht muss sehr dünn sein, so dass sie nur aus einer Lage rother Blutkörperchen besteht. Das Deckgläschen wird mit der Pincette gefasst, um den schädigenden Einfluss des warmen Luftstroms von den Fingern zu verhüten. Ebenso ist die Einwirkung des Ausathmungshauches zu vermeiden.

Zur Entnahme einer Blutprobe macht man mit einer Nadel oder einem feinen Messer eine kleine Wunde. Ein Blutströpfchen von Stecknadelkopfgrösse ist ausreichend. Man nimmt dasselbe mit dem Deckgläschen direkt von der Wunde, so, dass es in die Mitte des Deckglases zu liegen kommt. Oder man fixirt das Deckglas an den Ecken mit Wachs auf dem Objektträger, umrandet ersteres auch grösstentheils mit Wachs. Man erhält auf diese Weise einen capillaren Raum, in welchen man das Blut einfliessen lässt, um dann vollständig mit Wachs oder Vaseline zu umranden.

Zur Blutentnahme wählt man die Fingerspitze, Ohrläppchen, die Haut über den Metakarpalknochen. Für Untersuchungen auf Mikroorganismen und zur Gewinnung reiner Blutpräparate ist die Haut vorher mit Seife und Alkohol sorgfältig zu reinigen. Dies gelingt leichter und vollständiger an der Haut über den Metakarpalknochen. Die zur Blutentnahme bestimmte Hautpartie bestreicht man mit etwas reiner Vaseline.

Die Herstellung des Blutpräparates muss, um weitere Veränderungen des Blutes möglichst zu vermeiden, rasch geschehen. Die zu benutzenden Gläser müssen erst mit Salpeter- oder Salzsäure, Wasser, dann mit Alkohol sorgfältig gereinigt werden. Am besten thut man, für Untersuchungen (auf Mikroorganismen) noch nicht gebrauchte, gut gereinigte Gläser zu verwenden.

Auch zwischen Tropfen von Paraffinum liquidum lässt sich Blut frisch aufbewahren. (Plehn.)

Der Objektträger wird mit einem flachen Ring aus Spirituslack von der Breite des Deckgläschens versehen und in seiner Mitte ebenso wie das Deckgläschen mit einem Tropfen flüssigen Paraffins versorgt, der austretende Blutstropfen wird auf dem Paraffintropfen des Deckglases aufgefangen und mit dem ebenso behandelten Objektträger zwischen den beiden Paraffintropfen vertheilt.

Arnold benutzt mit dem Mikrotom angefertigte und in kochender 0,6procentiger Kochsalzlösung sterilisirte Scheibchen von Hollundermark, welche er auf ein Deckglas legt und mit einem Tropfen Blut benetzt. Das mit Vaseline umrandete Deckglas wird dann auf einen hohlen Objektträger gelegt. Die Vortheile dieses Verfahrens bestehen darin, dass 1. die Verdunstung vermieden ist, 2. dass das Blut verschiedenen Reagentien mit denen des Plättchen befeuchtet ist, ausgesetzt und 3. mit dem Plättchen fixirt werden kann, 4. dass von dem Plättchen Klatschpräparate angefertigt werden können.

Untersuchungen des frischen Säugethierblutes ausserhalb der Gefässe werden, um möglichst natürliche Verhältnisse herzustellen, auf einem heizbaren Objekttisch vorgenommen.

Um das Blut feucht zu conserviren, benutzt man indifferente Zusatz- und Conservirungsflüssigkeiten.

1. Physiologische Kochsalzlösung von 0,6—0,75 %. Der geeignete Conservirungsgrad ist für die verschiedenen Thierspecies festzustellen.
2. Blutserum, Lymphe, Amniosflüssigkeit und andere Sera eventuell mit Jodzusatz (Jodserum, siehe dieses).
3. Kochsalz mit etwas Jodzusatz oder Jodkaliumlösung, um die Schatten der rothen Blutkörper deutlich zu machen.
4. Gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung, welche wie 3 wirkt.
5. Paeini's Flüssigkeit

Hydrarchir. bichlor.	1,0,
Chlornatrium	2,0,
Aq. destill.	200,0.

6. Hayem's Flüssigkeit

Sublimat	0,5,
Chlornatrium	1,0,
schwefelsaures Natron	5,0,
Aq. destill.	200.

Man mischt 1 Theil Blut mit 100 Theilen der genannten Flüssigkeiten, nach 24 Stunden wird decantirt und der aus geformten Bestandtheilen des Blutes bestehende Niederschlag ausgewasehen und gefärbt. Für die Gewinnung von Dauerpräparaten sind die Methoden jedoch nicht ausreichend und die Fixirung nöthig.

Untersuchung des Blutes in Farblösungen.

Färbung des frischen Blutes. Färbung der rothen Blutkörperchen in einem frischen Präparat wird nur dann Anwendung finden, wenn man über das Vorhandensein und die Beschaffenheit ihrer Kerne, oder über das Vorkommen von Parasiten (Malariaplasmodien) sich Gewissheit verschaffen oder ihres Hämoglobins beraubte Körperchen, sogenannte Schatten, besser hervorheben will. Für letzteren Fall wird dünne Jodlösung. Eosin, Congoroth genügen.

Für die Färbung etwa vorhandener Kerne kommen die für Kerntinktion der farblosen Blutkörper geeigneten Methoden in Anwendung, welche entweder Kerne oder Protoplasma oder beide färben.

Als Kernfärbungsmittel dienen Methylviolett, Methylenblau, Hämatoxylin, und zur Färbung der Protoplasma Eosin.

Bei frischen Präparaten (für Karyokinesen) wird durch Mischung des Blutstropfens mit einer durch etwas Methylviolett gefärbten Kochsalzlösung von 0,7 % eine schnelle Färbung erzielt.

Feletti färbt frisches Blut, indem er einen Tropfen 2procentiger alkoholischer Methylenblaulösung auf dem Objektträger verdunsten lässt, das Deckplättchen mit dem anhängenden Blutstropfen auflegt und in

Paraffin einschliesst. Weisse Blutkörper, Blutplättchen und Mikroorganismen werden auf diese Weise gefärbt.

Pappenheim lässt für Untersuchung kernhaltiger, rother Blutkörper eine Spur von Krystallpalastkitt an zwei gegenüberligenden Ecken des Deckglases und in der Mitte der gegenüberliegenden Seite antrocknen. Mit dem Pinsel wird eine Spur Neutralroth auf den Objektträger gebracht, das mit Blut beschickte Deckglas darüber gelegt und sofort mit Wachs umrandet. Die Farbe löst sich im Blutplasma.

In wässrigen Lösungen wird das Hämoglobin gelöst. Man kann es jedoch, ohne dass es sein elektives Färbungsvermögen verliert, theils im feuchten, theils im troeknen Zustand fixiren.

Um feucht zu fixiren, wird ein Tropfen Blut den Dämpfen starker Osmiumsäure ausgesetzt, oder, sei es auf dem Objektträger, sei es in einem Uhrschälchen, mit dem Fixativ gemischt. Zur Fixirung dienen ausser Osmiumsäure Sublimat, Palladiumchlorid, Kleinenberg's Pikrinschwefelsäure, Flemming's Chromosmiumessigsäure, Goldchlorid und manche der gleichzeitig zur Verdünnung des Blutes behufs Zählung seiner Körperchen dienenden sogenannten Verdünnungsflüssigkeiten (siehe Zählung der Blutkörper). Nach erfolgter Fixation entfernt man mit Pipette das Fixativ, wäseht das Präparat aus und färbt.

Um die nachträgliche Färbung der feucht fixirten Präparate (siehe oben Fixirung) zu umgehen, kann man mit der Fixirung zugleich Färbung verbinden (Osmiumsäure 1% und Farbstoff). Nicht alle Farbstoffe vertragen die Mischung mit Osmiumsäure; Methylgrün, Methylviolett, Krystallviolett, Saffranin, Eosin, Säurefuchsin, Jod in Jodkalium gelöst, werden durch Osmiumsäure nicht zersetzt.

Pikrinsehwefelsäure mit farbloser Rosanilinbase gemischt (pikrinschwefelsaures Rosanilin), färbt nach dem Filtriren die Kerne der Blutkörper.[1])

Die trockne Fixirung, welche der feuchten vorzuziehen ist, geschieht entweder durch Einwirkung der Hitze, oder durch 2stündiges Einwirken einer Mischung von Aether und Alkohol zu gleichen Theilen auf das lufttrockne Deckglaspräparat.

Deckglastrockenpräparat.

Man verwendet ein sorgfältig mit Alkohol gereinigtes und dann kurz durch die Flamme gezogenes dünnes Deckplättchen.

Das mit der Pincette gefasste, bereits erkaltete Deckplättchen wird an den hervorquellenden Blutstropfen, der nicht zu gross sein darf, gebraeht und rasch über denselben weggezogen, um so das Blut in möglichst

[1]) Die feucht fixirten Blutelemente werden in Glycerin eingeschlossen. Vergl. hierüber H. Griesbach, Zur Fixirung, Färbung und Conservirung der zelligen Elemente des Blutes. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. 1890, Bd. VII, S. 326.

dünner Schicht zu erhalten. Dies gelingt nicht immer, besser wird es erreicht, indem man den Blutstropfen mit einem reinen Glasstab rasch über das Deckplättchen wischt, oder indem man das mit der Blutprobe versehene in der linken Hand bereit gehaltene Deckplättchen mit einem zweiten bedeckt und dann, sobald das Blut sich gleichmässig ausgebreitet hat, das zweite Deckgläschen vorsichtig über das andere hinwegführt. Sind die Ränder des Deckgläschens glatt, wird man leicht eine gleichmässige Vertheilung des Blutes erreichen, wenn man über das mit der linken Hand gefasste Deckplättchen das zweite nicht mit seiner ganzen Fläche, sondern mit dem einen Rand schräg hinüberführt. Das lufttrockene Blutpräparat wird zur Fixirung des Hämoglobins 6—10 Mal durch die Flamme gezogen oder im Trockenschrank oder auf einer Kupferplatte 2 Stunden lang bei 120 bis 130 Grad erhitzt.[1]) Nachdem das Präparat sich langsam abgekühlt hat, wird es gefärbt.

Vorsichtig zwischen zwei Deckgläschen ausgebreitetes Blut fixirt Galland in 3 bis 4 Minuten.

Alkohol absol. mit Eosin gesättigt. . .	25 ccm
Aether	25 „
Sublimat in absol. Alkohol (2 : 10) . .	5 Tropfen.

Auswaschen, Färben in gesättigter, wässriger Methylenblaulösung 1 Minute, Abwaschen, Alkohol absol., Balsam. Auch Osmiumdämpfe fixiren das Hämoglobin des Trockenpräparates (Hayem).

In trocken fixirten Blutkörpern wird das Hämoglobin durch Jodjodkaliumlösung nicht gelöst (Hayem). Bringt man eine solche Lösung von ziemlich intensiv brauner Farbe auf das angetrocknete Blutpräparat, so nehmen alle hämoglobinhaltigen Theile eine braune bis violette Farbe an.

Zur Doppelfärbung für rothe und farblose Körper des in der Hitze fixirten Blutpräparats verwendet Cole die Eosin-Methylgrünfärbung:

Eosin	0,325 gr
Aq. dest.	6,80 „
Alkohol	6,8 „

Einige Tropfen der Lösung bringt man auf 5—6 Minuten auf das Präparat, hierauf wird ausgewaschen und dann mit der zweiten Lösung gefärbt:

Methylgrün	0,130 gr
Aq. dest.	30 gr.

Für gewöhnlich und zur Darstellung eosinophiler Granulationen und kernhaltiger rother Blutkörper genügt Ehrlich's saure Hämatoxylin-Eosin-Lösung:

[1]) Engel empfiehlt Erhitzung auf 100—110 Grad 3—4 Stunden lang. In Triacidmischung werden die rothen Blutkörper mehr braunroth statt orange.

Eosin (krystall.) . . . 0,5
Hämatoxylin 2,0
Alkohol absol.
Aq. dest.
Glycerin $\overline{aa}$ 100,0
Acid. acet. glac. . . . 10,0
Alaun im Ueberschuss.

Die Mischung bleibt 3 Wochen im Licht stehen, dann färbt sie in wenigen Stunden. Die Präparate werden mit Wasser sorgfältig abgespült und in Kanadabalsam eingeschlossen. Die Kerne der weissen Blutkörper (Lymphocyten und polynucleäre Formen) erscheinen dunkelblau, die Kerne der mononucleären bläulich grau, die rothen Blutkörper und die Granula der eosinophilen Zellen roth.

Die verschiedenen Gewebselemente, insbesondere die des Blutes haben eine verschiedene Affinität zu den einzelnen Farbstoffen[1]) und wählen aus einer Mischung verschiedener Anilinfarben nur bestimmte aus. Ehrlich hat auf Grund dieser Erfahrung die Blutelemente in

neutrophile,
basophile,
acido- sive eosinophile[2])

unterschieden.

Rothe Blutkörper.

Der Flächendurchmesser der rothen Blutkörper beträgt etwa 7,7 μ ($^7/_{1600}$ mm), der Dickendurchmesser 1,9 μ. Die Grösse ist jedoch recht schwankend, neben diesen normal grossen Blutkörpern finden sich auch erheblich kleinere und grössere Formen.

Weisse Blutkörper.

Nach der Grösse und Beschaffenheit der Kerne und des Protoplasma können wir folgende Leukocyten unterscheiden:

1. Kleine Lymphocyten,
2. Grosse Lymphocyten,
3. Mononucleäre Uebergangsformen,
4. Polynucleäre Leukocyten,
5. Eosinophile Zellen.

[1]) Die Anilinfarbstoffe, zu denen die Körner der Leukocytenprotoplasma eine verschiedene Verwandtschaft haben, sind theils saure, theils basische, theils neutrale (Ehrlich).

Bei den sauren Farbstoffen ist das färbende Prinzip eine Säure, wie im pikrinsauren Ammon, Eosin, Aurantia, Indulin, Nigrosin.

Die basischen bestehen aus einer Farbbase und indiffirenten Säure (Fuchsin. Saffranin, Bismarckbraun, Gentiana, Dahlia, Methylviolett.

Die neutralen Farbstoffe bestehen aus einer Farbbase und Farbsäure (pikrinsaures Rosanilin, Methylenblau, Methylgrün).

[2]) Ehrlich unterscheidet ausserdem noch amphophile oder indulinophile Leukocyten mit β Granulationen.

1. Kleine Lymphocyten. Es sind dies Formen, die den rothen Blutkörperchen an Grösse ungefähr gleichkommen mit einem relativ grossen, intensiv tingirbaren Kern, welchen das Protoplasma als schwacher, kreisförmiger Saum umgiebt.

2. Grosse Lymphocyten, deren Durchmesser mindestens 2 Mal so gross ist, als der eines rothen Blutkörperchens, mit einem ebenfalls grossen, jedoch schwächer tingirbaren Kern und einem im Vergleich zu No. 1 breiteren Protoplasma. Die kleinen wie die grossen Lymphocyten machen im normalen Blut 25% aller weissen Körper aus.

Diese beiden Formen, von denen die letztere nur ein weiteres Entwickelungsstadium der ersteren darstellt, entstehen in den Lymphdrüsen. Aus den grossen Lymphocyten bildet sich in weiterer Entwickelung.

3. die mononucleäre Uebergangsform, deren Kern zumeist in der Mitte eine Einbuchtung hat, und die entsprechend dem weiteren Fortschreiten der Kernumbildung die ersten Spuren der sogenannten neutrophilen Granulationen im Protoplasma zeigt. Dieses Stadium geht in

4. den polynucleären Leukocyten über, der eine polymorphe Kernfigur oder mehrere kleine, stark färbbare Kerne führt und durch zahlreiche (violette) neutrophile ε-Granulationen charakterisirt ist. Diese von Ehrlich als polynucleäre, neutrophile Leukocyten bezeichneten Elemente sind von wechselnder Grösse, jedoch grösser als die rothen Zellen und meist kleiner als die grossen mononucleären. Sie machen circa 70% aller weissen Elemente des Blutes aus (Ehrlich, Einhorn) und wandern bei Entzündungen aus den Gefässen aus. Die neutrophile Körnung scheint nur beim Menschen vorzukommen und aus den Lymphdrüsen und dem Knochenmark zu stammen.

5. Die eosinophilen Zellen,[1]) deren Leib durch die in sauren Farbstoffen (Eosin) sich leicht färbenden, mikrokokkenähnlichen Granulationen (α) kenntlich ist. Letztere erscheinen dann purpurroth, während die Kerne, deren Zahl meist zwei oder drei ist, sich weniger dunkel (siehe oben) färben als die der polynucleären Leukocyten.

6. Die Mastzellen mit basophilen groben (γ) und feinen (δ) Granulationen finden sich spärlich bei Gesunden.

Bei Asthmathikern fand sie Lenhartz zahlreich im Sputum. Nach Ehrlich stammen sie aus der Milz und vielleicht von Bindegewebskörpern.

---

[1]) Platzt eine solche eosinophile Zelle, so können die frei gewordenen Granulationen leicht Mikrokokkenhaufen vortäuschen. Färbt man jedoch ein solches Präparat mit concentrirter Eosin-Glycerinlösung ca. 1 Stunde und nachträglich mit wässriger Methylenblaulösung 5—10 Minuten, so halten die Granulationen das Eosin fest, während die etwa vorhandenen Mikrokokken das Methylenblau angenommen haben. Das numerische Verhältniss der eosinophilen Zellen zu den übrigen Leukocyten ist bei Gesunden wie Kranken ein sehr schwankendes.

A. Die Zellen mit neutrophilen ε-Granulationen.

Diese Zellen, welche sich mit neutralen Anilinfarben, durch Vermischung einer basischen und sauren Farbe hergestellt, tingiren, sind theils mononucleäre (myelämisches Blut) oder mit mehrfach eingebuchtetem Kern versehene Leukocyten (Uebergangsformen), theils solche mit mehreren Kernen (polynucleäre, polymorphkernige). Diese letzteren, welche den Hauptbestandtheil der weissen Blutkörper bilden, sind es, welche emigriren. Bei Leukämie sind sie in der Regel nicht vermehrt.

Färbung des Trockenpräparats in Ehrlich's neutraler Farblösung.

I. 1. Färbung mehrere Minuten in einem Gemisch aus

Gesättigter wässriger Säurefuchsinlösung . 5 Theile,
Concentrirter Methylenblaulösung . . . . 1 Theil,

welche unter Umrühren zu der ersten Lösung zugegeben wird

Aq. destill . . . . . 5 Theile.

Nach einigen Tagen wird die Mischung filtrirt. Man kann auch eine Lösung von Methylgrün oder Orange verwenden.

2. Abwaschen in Wasser, Kanada.

Die rothen Blutkörper sind roth, ihre Kerne wie die der farblosen Körper tiefbau oder hellblau. Die eosinophile und neutrophile (violette) Körnung tritt deutlich hervor.

II. Färbung mehrere Minuten in einem Gemisch von

Gesättigter wässriger Orangelösung 125,
Concentrirter wässriger Säurefuchsinlösung
mit 20procentigem Alkoholgehalt 125,
Alkohol absol. 75,
Gesättigte wässrige Methylgrünlösung . . 125,

Nach längerem Stehen werden aus der Mitte der Flüssigkeit einige Tropfen entnommen und auf das Deckglas gebracht. (Ehrlich.)

Neuere Farbmischung von Ehrlich.

III. Färben mehrere Stunden lang, Abspülen, Trocknen, Balsam: Hämoglobin orange, Kerne grün, ε-Körnung violett, α-Körnung gelbroth.

Orange ς-gesättigte wässrige Lösung . . . 120 gr,
Säurefuchsin . . . . . 80 „
Methylgrün . . . . . 100 „
Aq. destill. . . . . 300 „
Alkohol absol. . . . . 180 „
Glycerin . . . . . 50 „

Nicht schütteln. Gefärbt werden α-, ε- und β-Granulationen.

B. Die Zellen mit basophilen δ- und γ-Granulationen

welche aus einem Anilinfarbengemisch nur die basischen (bakterienfärbenden) Anilinfarben annehmen (Methylenblau, Gentianaviolett, Fuchsin, Bismarckbraun, Dahlia, Methylgrün). Sie enthalten die feineren δ und gröberen γ-Granulationen, erstere in den mononucleären Uebergangsformen (mit

kleinem oder grossem Kern, Lymphocyten), letztere in den Mastzellen. Im normalen Blut sind die letzteren selten, finden sich jedoch im leukämischen in geringer Zahl.

Färbung der basophilen γ-Granulationen mit gesättigter Lösung obiger Farbstoffe mehrere Stunden.

Alkohol absol.	55 ccm,
Eisessig	10—12 ccm,
Aq. destill.	100 ccm.

Ausser den Bakterien färben sich nur die Mastzellenen und die polynucleären Kerne.

Für gleichzeitige Kernfärbung benutzt Westphal:

Grenacher's Karmin (Karmin 2,0, Aq. destill. 200, Alaun 2—5 gekoeht filtrirt), Acid. carbol. 1% . . . . . 100 ccm,
Glycerin . . . . . 100 „
Stark Dahliahaltiger Alkohol absol. . . 100 „
Acid. acet. glac. . . . . 20 „

Abspülen, Troeknen ete. Mastzellen rothviolett, die Kerne violett bis blau. Unreines Methylgrün färbt die γ-Körner blauviolett, die Kerne grün.

Die δ-Granulationen werden 10 Minuten in eone. wässriger Methylenblaulösung gefärbt. Hierauf Abspülen, Trocknen, Balsam.

C. Die Zellen mit acido- oder eosinophilen α-Granulationen,

deren Granula mit sauren Farben, insbesondere Eosin, sich färben, sind im normalen Blut selten, finden sich aber reichlicher im Knochenmark.

Zur Färbung dient eine concentrirte Lösung von Eosin und Glycerin. Gefärbt werden dadurch nur die rothen Blutkörper und die eosinophilen Granula. Nachfärben der Kerne nach Abspülen des Eosins mit Böhmer's Hämatoxylin[1]) oder vom Anfang an in Ehrlich's saurem Hämatoxylin-Eosingemisch S. 297.

Zur Färbung der Granulationen kann auch Congoroth in stark verdünnter alkoholischer oder wässriger Lösung oder die Färbung mit dem sogenannten dreifachen Glyceringemisch gebraucht werden.

Eosin.	
Aurantia,	
Nigrosin (s. Indulin) $\widehat{aa}$ . .	2,0
Glycerin	30,0.

[1]) Krystallisirtes Hämatoxylin . . . . . 1 gr
Absol. Alkohol . . . . . 10 ccm
Alaun . . . . . 20 gr
Aq. destill. erwärmt . . . . . 200 ccm
Filtriren.

Die beiden Lösungen werden gemiseht und bleiben 8 Tage in einem weit offenen Gefässe stehen. Färben 12—24 Stunden.

Färben 16—24 Stunden, Abspülen etc., Kanada. Die rothen Blutkörper sind orange, die Körper der Leukocyten schmutzig grau mit dunkelm Kern, die eosinophilen Körner roth.

Nach Ehrlich ist die Färbbarkeit der eosinophilen Körner in einem der sauren Farbstoffe für die Diagnose nicht ausreichend, sondern nur die Chromophilie zu allen sauren Farben entscheidend. Die Diagnose ist jedoch durch Anwendung folgender Farbstoffe gesichert:

1. starkes Eosin-Glycerin,
2. gesättigtes Indulin-Glycerin,
3. gesättigte, wässrige Orangelösung,
4. Eosin-Indulin-Glycerin,

Auswaschen,
Trocknen.

Färbung nach Weiss.[1])

Vanillin, alkoholische Lösung, 1%, Ferrisulfatlösung einige Tropfen, welcher kurz vor der Reaktion eine Mischung aus chemisch reiner Schwefelsäure und dem gleichen Volum Wasser in geringer Menge zugefügt wird.

Die bei 115° fixirten Blutpräparate kommen auf 24 Stunden in die Vanillinlösung, hierauf werden einige Tropfen der Ferrisulfatlösung auf dieselbe getropft. Die Deckglasränder werden mit du Bois'schem Kitt luftdicht verstrichen. Die Granula der eosinophilen Zellen erscheinen blau violett.

Gabritschewski färbt das lufttrockne und 5 Minuten in gleichen Theilen Alkohol und Aether fixirte Präparat mit

alkoholischer Eosinlösung von 1% 5 Minuten.
hierauf Abspülung in Wasser,
dann Aufträufeln eines Tropfens wässriger Methylenblaulösung.

Färbung mit Ehrlich's Triacidgemisch.[2]) S. S. 125.

Die Präparate schwimmen 2—8 Minuten auf der Mischung, werden in Wasser abgespült, getrocknet und eingeschlossen.

Die Erythrocyten erscheinen gelb, ihre etwa vorhandenen Kerne grünblau. Die meist neutrophilen Leukocytengranulationen sind leicht violett, die Kerne graublau gefärbt, die eosinophilen Granula leuchtend roth. Das Verfahren ist kurz.

Aronson und Philip haben Ehrlich's Triacidlösung modifieirt, indem sie eine gesättigte wässrige Lösung von Orange G, eine Lösung von Säurerubin (extra) und eine solche von Methylgrün nach Absetzen klären lassen und nun mischen.

Orangelösung	55 ccm	Die Lösung ist nach 1—2 Wochen langem ruhigen Stehen brauchbar.
Säurerubinlösung	50 „	
Aq. destill.	100 „	
Alkohol	50 „	
Hierzu		
Methylgrünlösung . . .	65 „	
Aq. destill.	50 „	
Alkohol	12 „	

[1]) Centralblatt der med. Wissenschaften. 1891. No. 40.
[2]) Archiv f. exp. Pathologie Bd. 28, p. 83.

1 Tropfen der Lösung auf eine der gewöhnlichen Petri'schen Schalen mit Wasser färbt in 24 Stunden. Abspülen in Wasser, kurzes Abspülen in absol. Alkohol, Origanumöl, Xylolkanada.

Die Färbung entspricht ungefähr derjenigen mit der Triacidlösung.

Die Chenzinsky-Plehn'sche Lösung.

Concentrirte wässrige Methylenblaulösung	40 gr
Eosinlösung (0,5 Eosin in 100 Alkohol von 70%) .	20 „
Aq. destill.	40 „

Deckglasfärbung 24 Stunden eventuell im Wärmeschrank. Die erwärmte Lösung färbt bereits in 15 Minuten die rothen Blutkörper roth, ebenso die eosinophile Körnung, die Kerne blau.

Vorkommen. Die eosinophilen oder acidophilen Leukocyten mit α-Granulationen finden sich in geringer Zahl im Blut. Sie betragen etwa 5% der sämmtlichen Leukocyten. Ihre Zahl kann übrigens wie bei der Leukämie auf 20% steigen.

Da sie sich auch im Knochenmark finden, wird ihre Vermehrung bei der Leukämie von einer Erkrankung des Knochenmarks herrühren (Ehrlich). Nach H. F. Müller sind jedoch die eosinophilen Zellen des Knochenmarks von den gleichnamigen Gebilden des normalen Blutes verschieden. Jene sind grösser und chromatinärmer, ihre Kernfiguren plumper, ihre Bewegungen langsamer (Markzellen). In den eosinophilen grobgranulirten Zellen des Bluts vermuthet Müller Abkommen feingranulirter Zellen. Für die myelogene Leukämie wäre demnach das Vorkommen der grossen eosinophilen Markzellen charakteristisch.

Von den basophilen Zellen finden sich die mit γ-Granulationen oder der groben, sogenannten Mastzellenkörnung in dem Bindegewebe. Im normalen Blut kommen sie nicht vor, in geringer Zahl werden sie bei Leukämie gefunden.

Die Leukocyten mit den feinen basophilen δ-Granulationen sind mononucleäre Zellen (Lymphocyten). Sie betragen circa 20—25% der weissen Blutkörper.

Die Zellen mit neutrophilen ε-Granulationen, die polynucleären Leukocyten, betragen circa 65—70% der weissen Blutkörper. Sie sind es, welche bei der Entzündung emigriren. Bei der Leukämie sind sie mitunter vermehrt.

Diese Leukocyten stammen als einkernige Zellen aus den Lymphdrüsen (Lymphocyten), der Milz und dem Knochenmark, werden im Blut zu Uebergangsformen mit eingebuchtem Kern und gehen in die mehrkernigen Zellen über.

Das Vorkommen rother und blauer Granula in hämoglobinlosen und hämoglobinhaltigen Zellen des Knochenmarks oft nebeneinander in einer Zelle weist auf eine Umwandlung der ersteren Zellen in letztere hin. (Arnold Virchow's Archiv Bd. 144.)

Aus den im embryonalen Knochenmark vorkommenden Körnchen reifen einkernigen Zellen entstehen die feingranulirten Myelocyten (neutrophile beim Menschen, amphophile beim Kaninchen).

Die eosinophilen Markzellen entstehen aus Zellen mit grober basophiler Körnung, welche wie die feingranulirten Zellen von lymphoiden Markzellen abstammen.

Bei Thieren kommen Granula vor, die aus Triacid den basischen Farbstoff aufnehmen und in saurer Dahlialösung sich färben.[1])

Glykogenreaktion der farblosen Blutzellen.

Zu dem lufttrockenen Blutpräparat wird auf einige Minuten eine Jodgummilösung gebracht.

Jod pur.	1,0
Kali jodat	3,0
Aq. destill.	100,0
Gummi arab. in Ueberschuss.	

Einzelne weisse Blutzellen nehmen eine mahagonibraune Färbung an (Gabritschewsky[2])

Blutplättchen.

Die Blutplättchen (Bizzozero), Hämatoblasten (Hayem) sind wegen ihrer Kleinheit und Zartheit in den frischen Blutstropfen nur bei aufmerksamer Betrachtung zu erkennen.

Sie stellen runde, scheibenförmige, 1,8—2,5 μ im Durchmesser betragende Gebilde dar, welche aber bald ausserhalb des Gefässes sich verändern, zackig werden und sich zusammenballen; darum empfiehlt es sich, dieselben entweder, so lange sie noch in den Gefässen sind, in Kapillaren oder kleinen Venen beim lebenden oder eben getödteten Thiere oder nach rascher Fixirung (Hitze, Osmiumsäure) zu untersuchen.

Die trocken fixirten und intakten Plättchen färben sich mit Methylviolett, Fuchsin und Anilingrün, Eosin, Hämatoxylin in concentrirten wässrigen oder alkoholischen Lösungen intensiv.[3]) Sie sind wahrscheinlich Theile rother und farbloser Blutzellen. Bei Störungen der Blutbildung und Ernährung scheinen sie vermehrt. (Determann, Zeitschrift f. klinische Medicin Bd. LXV.)

Untersuchung des Blutes in Schnitten.

Hierzu kann man freies wie in den Geweben und Gefässen befindliches Blut benutzen.

Für den ersten Fall fixirt man Blut, indem man es in einer 2procentigen Lösung von Osmiumsäure durch Schütteln vertheilt. Nachdem sich die Blutkörperchen (nach 24 Stunden) zu Boden gesenkt, entnimmt

[1]) Hirschfeld, Virchows Archiv Bd. 153.
[2]) Archiv f. exp. Pathologie. 1891, Bd. 28. p. 272.
[3]) Eberth und Schimmelbusch, Die Thrombose 1888.

man 1—2 Tropfen des Blut-Osmiumgemischs, überträgt es in 5 ccm bei 33—37° C. verflüssigten Agar und vertheilt es darin durch Schütteln. Der Agar wird dann in Papierkästchen gegossen, wo er erstarrt. Hierauf Härtung des Agarblocks in mehrmals erneuertem Alkohol von 85%, Schnittfärbung. Für Schnittpräparate des Blutes Fixirung kleiner Gewebstücke und Blutgefässe, letztere nach doppelter Unterbindung in Sublimat (zur Fixirung des Hämoglobins) mehrere Stunden, oder Fixirung in einem Gemisch von Müller'scher Flüssigkeit und Sublimat 2—24 Stunden bei 35—40° C. (2 gr Sublimat in siedender Müller'scher Flüssigkeit 100 ccm gelöst). Alkohol, Auswaschen, Einbetten, Färben.

Zählung der Blutkörper.[1])

Für die Zählung der Blutkörper bedarf es

1. einer Flüssigkeit zur Verdünnung des Blutes und
2. eines Zählapparates.

Flüssigkeiten zur Verdünnung des Blutes.

Die betreffenden Flüssigkeiten dürfen die Körperchen nicht schädigen, d. h. sie nicht zerstören. Hierzu ist die physiologische Kochsalzlösung nicht indifferent genug.

Man mischt 1 Theil Blut mit 100 oder mehr Theilen der Verdünnungsflüssigkeit.

Als Verdünnungsflüssigkeiten werden gebraucht

1. eine 3procentige Kochsalzlösung,
2. eine 15—20procentige Magnesiumsulfatlösung,
3. eine 5procentige schwefelsaure Natronlösung,
4. Jodserum,
5. Pacini'sche Flüssigkeit:

Hydrargyr. bichlor.	2,0
Natrium bichlor.	4,0
Glycerin	26,0
Aq. destill.	226,0.

Wird vor dem Gebrauche mit 3 Theilen Wasser verdünnt.

6. Gower's Flüssigkeit:

Natrium sulfur.	6,3
Acid. acetic.	3,6
Aq. destill.	119,0.

Wässrige Lösung von Natriumsulfat von der Dichte 1025.

7. Potain's Flüssigkeit:

Lösung von Gummi arab.	3	Volumtheile,
„ „ Natrium sulfur.	3	„
„ „ Natriumchlorid	3	„

Jede Lösung von 1020 Dichtigkeit.

[1]) Vierordt, Archiv f. physiolog. Heilkunde. Bd. 11 und 13; Welcker, Archiv des Vereins für gem. Arbeiten. Göttingen. Bd. I; Cramer, Nederland Lancet, 1855, haben bereits Methoden zur Zählung der Blutkörperchen mitgetheilt.

8. Mosso's Flüssigkeit[1]):

Acid. osmic.	1,0
Aq. destill.	100,0.

Mosso's Lösung conservirt wohl gut die einzelnen Elemente, lässt aber die farblosen Zellen nicht deutlich genug hervortreten. Sie empfiehlt sich mehr für Zählung der rothen Blutkörper.

Von den Pacini'schen Flüssigkeiten giebt Mosso der für Kaltblüter empfohlenen[2]) den Vorzug. Bei Hayem's Gemisch findet er Glycerin und schwefelsaures Natron ganz überflüssig, letzteres sogar schädlich. Hayem's Flüssigkeit steht, weil sie weniger Sublimat enthält, der Pacini'schen Flüssigkeit nach. Aus demselben Grunde ist auch Löwit's Flüssigkeit nicht zu empfehlen. All' diese Flüssigkeiten coaguliren nach Mosso das Serum und entfärben die rothen Blutkörper.

9. Mayet's Flüssigkeit:

Aq. destill.	100,0
Natr. phosphor neutr.	2,0
Rohrzucker in Substanz quantum satis bis die Dichte der Lösung = 1085.	

10. Löwit's Flüssigheit:

Aq. destill.	300,0
Natr. chlorat.	2,0
Natr. sulfur.	4,0
Hydrargyrum bichlorat	4 ccm einer gesättigten Lösung.

11. Gräber's Flüssigkeit:

Magnes. sulf.	5,0
Aq. destill.	100.

12. Toison's[3]) Flüssigkeit:

Aq. destill.	160 cc
Neutrales Glycerin zu 30°	30 cc
Natriumsulfat pur.	8 gr
Chlornatrium	1 gr
Methylviolett 5 B	0,025 gr

Die Toison'sche Flüssigkeit lässt sowohl die rothen wie die weissen Blutkörper gleich deutlich erkennen und ist darum nach den Erfahrungen des Verfassers sehr brauchbar.

---

[1]) Mosso A., Esame critico dei metodi adoperati per studiari i corpusculi di sangue. Atti della Real. Acad. dei Lincei Roma Rendic. 1888, p. 427—433. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. 1890. Bd. 7.

[2]) Hydrargyrum bichlorat. 1 gr
Cl Na 2 „
Aq. destill. 200 „
(für Kaltblüter.)
Hydragyrum bichlorat. 1 „
Cl Na 4 „
Aq. destill. 200 „
(Für Warmblüter.)

[3]) Toison, Sur la numeratiou des Elements du sang. Journ. des Sciences med. de Lille. 1885. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 1885.

Für Zählung der weissen Blutkörper ist auch eine Flüssigkeit zu gebrauchen, welche die rothen löst.

13. Thoma benutzt eine 0,3—0,5procentige Essigsäure, der man noch etwas Anilinfarbstoff beifügen kann.

14. Hayem's Mischung.

a) Für normales Blut dient die mit A bezeichnete Mischung Hayem's:

Aq. destill.	200 gr,
Chlornatrium	1—2 „
Schwefelsaures Natron	5 „
Sublimat	0,5 „

b) Für pathologisches Blut des Menschen und Hämatoblasten (Blutplättchen) Jodserum.

c) Für Thiere die Flüssigkeit B (diabetischer Urin), der mit 6procentigem Wasserstoffsuperoxydwasser versetzt ist, oder die Flüssigkeit von Bouillard:

15. Flüssigkeit von Bouillard.[1])

Sie besteht aus 2 Theilen des künstlichem Serums von Malassez[2]) und einem Theil von Hayem's Flüssigkeit A (Flüssigkeit C).

Das Serum von Malassez wird gewonnen, indem man löst:

1.	Gummi arabic. (weiss)	8 gr
	in Aq. destill.	100 cc
2.	Chlornatrium	3 gr
	in Aq. destill.	100 cc
3.	Schwefelsaures Natron	5 gr
	in Aq. destill.	100 cc

Diese 3 Lösungen müssen ein specifisches Gewicht von 1,022 haben, resp. 3° Baumé anzeigen.

Man mische Lösung 2 und 3 und füge zu 265 cc dieser Mischung 65 cc der Gummilösung. Nachdem man filtrirt hat, lässt man die Flüssigkeit einige Zeit stehen und bringt auf die Oberfläche ein Stückchen Kampher.

Im Verhältniss von 2 : 1 giebt man nun zu dieser Flüssigkeit Hayem's Flüssigkeit A:

Aq. destill.	200 gr,
Chlornatrium	1 „
Schwefelsaures Natron	5 „
Sublimat	0,5 „

Blutkörperchenzählapparat.

Hayem's Zählapparat. Hierzu gehören: 1. 2 Pipetten (*A* und *B*), 2. ein Mischgefäss mit verbreitertem Glasstäbchen (*c*), 3. ein eigens construirter Objektträger (feuchte Kammer) und 4. ein Mikroskopocular mit quadratischer Eintheilung *D*.

---

[1]) Bouillard, Etude pratique sur la numeration des globules du sang. (Recueil des Mém. de Méd. de Chirurg. et Pharm. milit. Juillet-Aout. 1887.)

[2]) Das Serum von Malassez verändert die Form der menschlichen Blutkörper und zerstört die Blutkörper mancher Thiere (Kaninchen, Hund).

1. Die Pipette *A* für das Blut ist auf 2,0, 2,5, 3,0, 4,0 und 5,0 cmm geaicht. Ueber dem letzten Theilstrich der Pipette ist ein kleiner Luftraum, und an dem oberen Ende trägt sie einen Kautschukschlauch mit Mundstück.
2. Die Pipette *B* für das künstliche Serum fasst 500 cmm.
3. Das Mischgefäss ist eine circa 2 cm hohe Eprouvette.
4. Die feuchte Kammer *E* ist ein Objektträger, dem in der Mitte ein mit einer kreisförmigen Oeffnung versehenes Glasplättchen von 0,2 mm Dicke aufgekittet ist. Ein vollkommen planes Deckplättchen schliesst diese Kammer. Die Höhe dieser Kammer, des Raumes zwischen Deckplättchen und Objektträger beträgt demnach 0,2 mm.
5. Das mit quadratischer Eintheilung versehene Ocularmikrometer enthält in einem grösseren Quadrat von 0,2 mm Seitenlänge 16 kleinere quadratische Felder.

Zum Zählen wird das Blut mit einer Flüssigkeit (s. Hayem's Verdünnungsflüssigkeiten, Jodserum, S. 307 und 28), welche die Blutkörperchen schont, in einem bestimmten Verhältniss verdünnt (s. Verdünnungsflüssigkeiten).

Anfertigung des Blutpräparates zum Zählen. Der mit der Verdünnungsflüssigkeit (s. S. 307) im Verhältniss von 1 : 100 verdünnte Blutstropfen kommt in die feuchte Kammer Hayem's, so dass er beim Auflegen des Deckglases zu einer flachen Scheibe von bestimmter Höhe (0,2 mm Höhe der Kammer) abgeflacht wird, welche jedoch die Seitenränder der Kammer nicht erreicht, sondern von einem Luftring umgeben bleibt.

Das Ocular, welches mit der in Quadrate getheilten Glasplatte versehen ist, wird eingestellt; die Seitenlänge des grossen Quadrats beträgt 0,2 mm, das ist ebensoviel wie die Höhe der Zählkammer.

Die von dem Quadrat bedeckte Blutmenge entspricht demnach einem Würfel von 0,2 mm Seite. Man zählt die in den 16 Quadraten befindlichen Blutkörper und kann, da die Verdünnung des Blutes bekannt ist, leicht die in einem Cubikmillimeter nicht verdünnten Blutes befindliche Zahl von Blutkörpern berechnen.

Sind auf 2 cmm Blut 500 cmm Serum (Verdünnungsflüssigkeit) verwendet worden, so ergiebt sich folgendes Resultat: Zur Benetzung der Wand der Serumpipette wurden 6 cmm Flüssigkeit verbraucht, welche in derselben zurückblieben.

Es wurden demnach verwendet 494 cmm, zu diesen kommen 2 cmm Blut — im Ganzen 496 cmm Mischung. Das Verhältniss des Blutes zu dieser Mischung ist $2 : 496 = 1 : 248$.

Um die Zahl der Blutkörperchen des unverdünnten Blutes zu erfahren, multiplicirt man die Zahl der gezählten Blutkörper mit 248 und das Product

wieder mit 125 (der Verhältnisszahl des Würfels von 0,2 mm Seite zu dem Würfel von 1 mm Seite). Da $248 \times 125 = 31000$ ist, ist es einfacher, die gefundene Zahl der Blutkörper mit dieser Zahl zu multipliciren.

Die Zählung mit dem Malassez'schen Apparat ist weniger einfach als mit dem von Thoma-Zeiss, der eine Combination des genannten und des Apparates von Hayem und Gowers ist.

Der Zählapparat von Thoma-Zeiss.[1])

Der Apparat besteht aus:

1. einer graduirten Mischpipette (s. Fig. *MS*).
2. einem Objektträger *o b*, mit der Zählkammer *B* und
3. einem plangeschliffenen Deckglas *D*.

1. Die Mischpipette ist ein feines Capillarrohr, das am unteren Ende *S* zugespitzt ist, nach oben sich bei *E* erweitert und hier eine freie bewegliche Glasperle einschliesst. Ueber das obere Ende ist ein Gummischlauch (*G*) gezogen, der an seinem freien Ende ein zum Ansaugen dienendes Mundstück aus Horn umschliesst.

Die Capillarröhre ist in zehn durch Striche markirte Abschnitte getheilt, welche das Verhältniss des Rauminhalts des Capillarrohrs (und seiner Theile) zu demjenigen der Erweiterung *E* angeben (1 : 99). Zwei Marken sind mit 0,5 und 1 bezeichnet, und über der kugelförmigen Erweiterung befindet sich eine dritte Marke 101.

Mit der Spitze *S* wird Blut bis zur Marke 1 angesaugt, und, nachdem noch das an der Spitze haftende Blut abgewischt wurde, unmittelbar darauf Verdünnungsflüssigkeit bis zu Marke 101. In der kugelförmigen Erweiterung mischen sich dann 99 Raumtheile Verdünnungsflüssigkeit mit 1 Raumtheil Blut, während zwischen *S* und 1 ungemischte Flüssigkeit bleibt.

Hat die angesaugte Flüssigkeit die Marke 101 erreicht, wird das Ansaugen unterbrochen, die Spitze *S* mit dem Finger verschlossen und durch Schütteln der Pipette die beiden Flüssigkeiten durch Hin- und Herbewegung der Glasperle in der kugelförmigen Erweiterung gemischt. Man erhält so eine 100fache Verdünnung des Blutes. Für eine 200fache Verdünnung wird Blut nur bis zum Theilstrich 0,5 und Verdünnungsflüssigkeit bis 101 angesaugt.

Unter Schütteln werden durch Blasen die ersten Tropfen der nachgezogenen Verdünnungsflüssigkeit aus der Kapillare entfernt und erst der vierte oder fünfte Tropfen in die Zählkammer gebracht.

2. Die Zählkammer[2]) besteht aus einer 0,1 mm tiefen Kammer,

---

[1]) Angefertigt von Carl Zeiss in Jena.

Prof. Dr. Stintzing in Jena, Zur hämatologischen Diagnostik. Diagnostisches Lexikon für praktische Aerzte von Dr. A. Beren und Dr. M. T. Schnirer.

[2]) Objektträger *O*, dem eine viereckige Glasplatte *W* mit kreisförmigem Ausschnitt in der Mitte aufgekittet ist. Sie bildet die seitliche Kammerwand. In der Mitte des Ausschnitts ist dem Objektträger *O* ein Glasscheibchen *B* aufgekittet, welches genau um 0,1 mm niedriger ist als das durchbrochene umfassende

deren Boden in 400 Quadrate eingetheilt ist, so dass die über einem solchen befindliche Flüssigkeitsschicht $^1/_{4000}$ cmm beträgt.

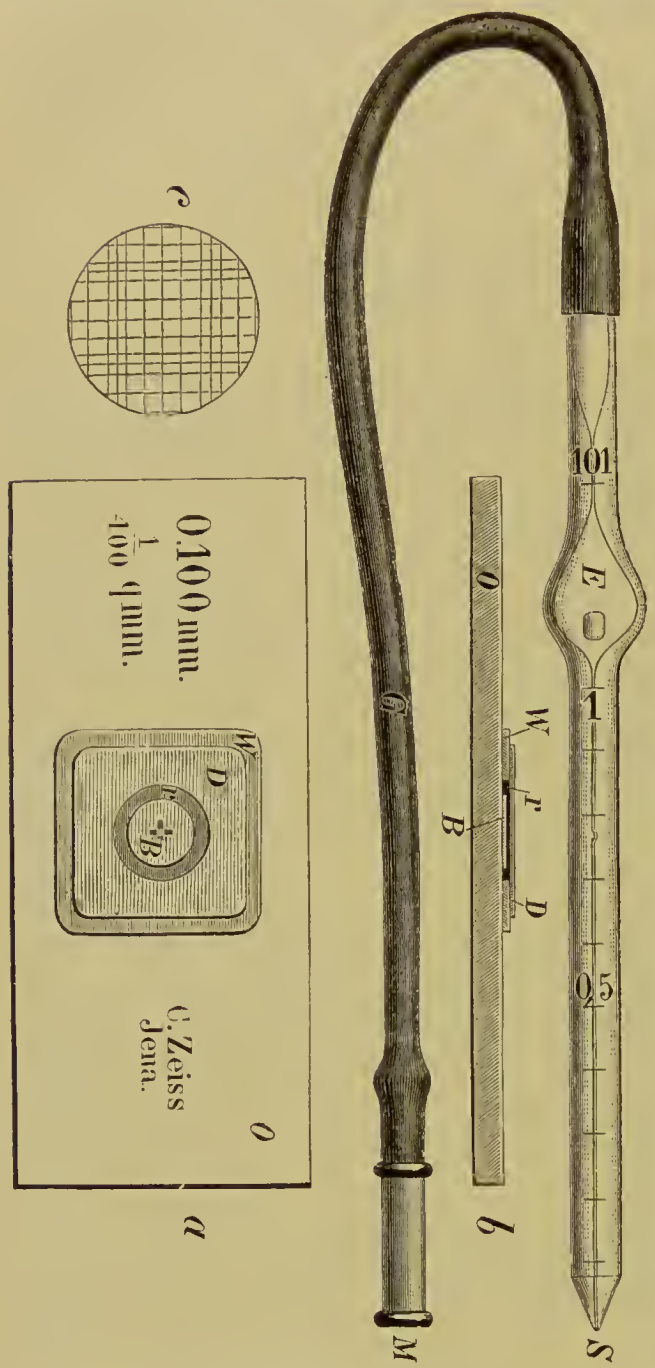

Fig. 84.
Blutkörperchenzählapparat nach Thoma-Zeiss.

Der Blutstropfen, welcher in die Kammer kommt, darf keine Luftblasen enthalten und muss so gross sein, dass er den Boden *B* der Zählkammer bedeckt und in den Raum zwischen Deckplättchen *D* und viereckiger Glasplatte *W* nicht eindringen kann.[1])

Der Zählapparat mit dem in der Kammer befindlichen Blutstropfen bleibt auf dem Mikroskoptisch einige Minuten ruhig liegen, bis die Blutkörperchen sich gesenkt haben.

Die im Boden der Zählkammer eingeritzte Felder-Eintheilung *C* besteht aus 16 grösseren Quadraten, von denen jedes wieder in 16 kleinere Quadrate getheilt ist. Die grösseren Quadrate sind zur leichteren Orientirung durch 3 dicht stehende Linien getrennt.

Da die Höhe der Zählkammer $^1/_{10}$ mm, der Flächengehalt jeden Quadrats $^1/_{400}$ qmm beträgt, ist der Rauminhalt derselben $^1/_{4000}$ cmm.

Glasplättchen *W*. Das Scheibchen *B* bildet den Boden der Zählkammer und trägt an seiner oberen Fläche eingeritzt mehrere Felder. Ein auf das ausgeschnittene Glasscheibchen *W* gesetztes Deckplättchen *D* bildet die Decke der Kammer, deren Höhe demnach 0,10 mm beträgt.

[1]) Bei sorgfältiger Reinigung sollen beim leichten Andrücken des Deckglases Newton'sche Farbenringe auftreten.

Die Thoma-Zeiss'sche Kammer giebt bei niederem Luftdruck zu hohe, bei höherem Druck zu niedere Werthe. Um diesen Einfluss zu beseitigen, hat Meissner (Münchner med. Wochenschrift No. 4 1898) den Rand der Zählkammer mit einer seichten Furche versehen, welche der Luft Zutritt in die Kammer gestattet und dadurch den Einfluss des Luftdrucks auf diese beseitigt.

Zählung der rothen Blutkörperchen.

Man zählt bei einer Vergrösserung von 200—300 die in vier untereinander gelegenen kleineren Quadraten eines grösseren Vierecks befindlichen Blutkörper.

Um die an den Grenzen der einzelnen Felder gelegenen Blutkörper nicht doppelt zu zählen, beobachte man die Regel, für jedes Quadrat oder jede Längsseite von Quadraten nur diejenigen Blutkörper zu zählen, welche in den Feldern dieses Rechtecks enthalten sind und der oberen und linken oder der rechten und unteren Kante derselben auf- und anliegen.

Je grösser die Zahl der gezählten Raumeinheiten, um so sicherer wird die Zählung sein.

Am besten thut man, alle Felder (256 kleine Quadrate = 64 Längsreihen) zu zählen.

Zur Berechnung wird die Zahl der gezählten Blutkörper (z) mit der Zahl der Verdünnung (v) und dem Kubikinhalt eines Quadrates (4000) multiplicirt und durch die Zahl der gezählten Felder (n) dividirt. Die erhaltene Ziffer (x) giebt die Zahl der Blutkörperchen in einem Kubikmillimeter Blut.

Die Berechnung geschieht nach folgender Formel:

$$\frac{z\,v\,4000}{n} = x \text{ Blutkörper.}$$

Wären z. B. in den sämmtlichen 256 Feldern 3160 rothe Körper bei einer Verdünnung von 1 : 100 gezählt worden, so würde sich ergeben:

$$\frac{3160 \cdot 100 \cdot 4000}{256} = 4\,937\,000 \text{ Blutkörper}$$

in einem Kubikmillimeter.

Reinigung der Apparate. Um genaue Resultate zu erhalten, sind die Apparate sorgfältig zu reinigen. Gerinnsel, die in dem Schüttelmischer zurückgeblieben sind, geben zu bedeutenden Fehlern Anlass.

Man bläst, um den Apparat gut zu reinigen, den Inhalt aus, durchspült ihn mit der Verdünnungsflüssigkeit, dann mit destillirtem Wasser, zuletzt mit Aether, den man wieder ausbläst.

Festere, auf diese Weise nicht zu entfernende Theilchen werden theils mechanisch (durch ein Rosshaar) theils chemisch durch Säuren und Alkalien entfernt.

Die Zahl der rothen Blutkörper ist beim Manne etwas höher als beim Weibe, 5 Millionen gegen 4 Millionen in Kubikmillimeter. Ihre

Zahl kann jedoch bei manchen Krankheiten fast auf das Doppelte steigen und bis zu 300000 auf Kubikmillimeter sinken.

Zählung der weissen Blutkörper.

Hierzu kann selbstverständlich auch der für die Zählung rother Blutkörper dienende Apparat verwendet werden. Da jedoch die Zahl der weissen Körper eine viel geringere ist, empfiehlt es sich, um nicht eine zu grosse Zahl von Präparaten durchzählen zu müssen, einen Apparat zu verwenden, bei welchem das Blut nur um das Zehn- bis Zwanzigfache verdünnt wird. Wo die weissen Blutkörper erheblich vermehrt sind, genügt die Zählung mit dem für die rothen Blutkörper früher beschriebenen Zählapparat. Bei sehr starker Vermehrung der Leukocyten ist dann auch eine stärkere Verdünnung 1 : 50 zu gebrauchen.

Um die weissen Blutkörper allein zu zählen, kann man auch die rothen Blutkörper lösen. Thoma benutzt hierzu 0,3procentiges Essigsäureanhydrid.

Die Zählung der verschiedenen Leukocytenformen ist nur bei Anwendung der Ehrlich'schen Farbstofflösung am besten mit Benützung eines Ocularnetzes ausführbar. Man notirt immer die einzelnen Leukocytenformen in einer grösseren Zahl gezählter Gesichtsfelder und berechnet ihr Verhältniss zu einander. Ist die Gesammtzahl der Leukocyten im Kubikmillimeter ermittelt, lässt sich auch die (Theil-) Zahl der einzelnen Formen in demselben berechnen.

Zahl der weissen Blutkörper. Das Verhältniss der weissen zu den rothen Blutkörpern schwankt beim Gesunden zwischen 1 : 400 bis 1 : 1000, die absolute Menge derselben bezogen auf 1 cmm beim Gesunden zwischen 5000—10 000.

25 % der Leukocyten sind kleine einkernige Lymphocyten, 75 % mehrkernige grössere Zellen. Von diesen sind 2—4 % eosinophile, und höchstens ½ % Mastzellen. Die übrigen 70—71 % haben neutrophile Körnung.

Aenderung in der Zahl der Blutkörper.

A. Rothe Blutkörper. Die Zahl der rothen Blutkörper, welche unter normalen Verhältnissen beim Mann 5, beim Weib 4 Millionen pro cmm beträgt, steigt bei Polycythämie (Plethora polycythämica) wie Hyperglobulie auf 7 Millionen für cmm gleichzeitig mit dem Hämoglobingehalt 16 % (normal 13 %). Auch vorübergehend nach Transfusionen Eindickung des Blutes, Herzinsufficienz, in gelähmten Theilen in Folge der Stauung ist die Zahl der Blutkörper vermehrt. Verminderung der Zahl der rothen Blutkörper bei Oligocythämie und Hypoglobulie findet sich bei anämischen Zuständen mit Verminderung des Hämoglobin- und Vermehrung des Wassergehaltes. Die höchsten Grade

erreicht sie bei der progressiven perniciösen Anämie, bei der die Zahl der Erythrocyten noch unter eine Million selbst bis 300000 pro cmm sinken kann, während bei Chlorose mehr eine Verminderung des Hämoglobingehaltes sich findet.

Nach Schwinge, Pflügers Archiv, Bd. 73, 1898, ist nach der Geburt die Zahl der rothen Blutkörper am grössten, dann folgt Abfall bis zum Minimum, Zunahme mit dem Wachsthum, periodische Schwankungen in der Reife und Abnahme gegen das Lebensende.

B. Weisse Blutkörper. Die Zahl der Leukocyten schwankt schon unter physiologischen Verhältnissen; im nüchternen Zustand nimmt sie ab, nach Nahrungsaufnahme zu, auch zu verschiedenen Tageszeiten und an verschiedenen Tagen finden sich Schwankungen. In der Schwangerschaft und dem Puerperium ist sie vermehrt. Im kindlichen Alter ist die Zahl der Leukocyten grösser als bei Erwachsenen, bei Kindern von 7 Tagen bis 10 Monaten beträgt sie 12900 und das Verhältniss der weissen zu den rothen ist 1 : 395. Die Zunahme der Leukocyten ist durch eine Vermehrung der neutrophilen Zellen bedingt. Bei verschiedenen Krankheiten findet sich eine erhebliche Vermehrung der Leukocyten.

Nach Schwinge, Pflügers Archiv, Bd. 73, 1898, nehmen die Leukocyten von der Wachsthums- bis zur Reifeperiode ab und später wieder zu. Während der Pubertät sind sie beim weiblichen Geschlecht weniger zahlreich als beim männlichen. Im Klimakterium nähert sich ihre Zahl beim Weibe derjenigen des Mannes.

Zahl der Blutplättchen.

Die ausserordentliche Klebrigkeit der Blutplättchen hält bei der Blutentnahme eine grosse Zahl derselben an den Wundflächen zurück. Darum ist es schwer, eine genaue Vorstellung über ihr numerisches Verhältniss in einer gegebenen Blutmenge bei der üblichen Zählungsweise zu gewinnen. Mehr Erfolg dürfte das auch schon von Laker eingeschlagene Verfahren haben, zuerst die Zahl der Blutkörper mit dem Thoma-Zeiss'chen Apparat zu bestimmen, und dann in einer weiteren Probe das Verhältniss der rothen Blutkörper zu den Blutplättchen zu ermitteln. Aus den bei beiden Operationen gefundenen Werthen lässt sich dann die absolute Menge der Blutplättchen in einem Kubikmillimeter Blut berechnen. Laker[1]) hat auf diese Weise die Zahl der Blutplättchen pro cmm Blut auf 400000 berechnet. Andere Forscher fanden nur 2—300000 Blutplättchen auf 1 cmm. Ueber die numerischen Schwankungen der Blutplättchen und ihre Veränderungen bei pathologischen Processen liegen noch keine ganz zuverlässigen Angaben vor. S. Determann, Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. LXV.

[1]) Sitzungsberichte der Wiener Akademie 1882, 1884, 1886.

Veränderungen in der Gestalt, Grösse und des Inhalts der Blutkörper.

1. Gestalt und Grösse. Hier ist in erster Linie die Poikilocytose zu nennen, bei welcher die rothen Blutkörper eine sehr unregelmässige Gestalt zeigen. Neben kreisscheibenförmigen, normalgrossen Erythrocyten finden sich viele unregelmässige, gekrümmte, sack-, flaschen-, keulen- und sternförmige.

Einige sind sehr klein, andere wieder sehr gross. Sie sind vermuthlich durch Abschnürung aus älteren (reifen) Erythrocyten entstanden. Ehrlich nennt sie darum „Schistocyten" und Hayem betrachtet sie als Uebergangsformen seiner Erythroblasten (der Blutplättchen) zu rothen Körpern, eine Annahme, die nicht bewiesen ist.

Sie finden sich besonders häufig bei progressiver perniciöser Anämie, in geringerer Zahl aber auch bei Chlorose, Leukämie und secundärer Anämie. Trümmer rother Blutkörper finden sich in Gestalt kleiner rother Tröpfchen nach Verbrennungen (Hämocytotrypsie).

2. Veränderungen des Inhalts. Neben den obengenannten Formen finden sich noch kernhaltige rothe Blutkörper, und zwar als:

a) Normoblasten, kernhaltige Erythrocyten von normaler Grösse und
b) Megalo- oder Gigantoblasten, kernhaltige Ertyhrocyten, die 4—5 Mal grösser als die normalen sind.

Der bald central, bald mehr peripherisch gelegene Kern der Normoblasten ist durch seine starke Färbbarkeit vor den Megaloblasten ausgezeichnet, welche sich aber im Ganzen stärker als die gewöhnlichen Leukocytenkerne färben.

Bei Färbung in Hämatoxylin, Eosin erscheinen die Kerne der Erythroblasten scharf begrenzt, homogen oder körnig und tiefblau, im dreifachen Glyceringemisch werden sie fast schwarz und bei der Triacidfärbung intensiv grünblau oder dunkelblau.

Da den mitunter ganz oberflächlich gelagerten Kernen der Normoblasten entsprechende Gebilde auch frei gefunden werden, nahm Ehrlich an, dass der Kern der Normoblasten ausgestossen wird und indem sich um denselben Protoplasma ansetzt, zu einem neuen Blutkörperchen wird. Auf diese Weise würde eine Regeneration der Blutkörper erfolgen.

Normoblasten finden sich im normalen Knochenmark des Erwachsenen, die Megaloblasten in dem von Embryonen.

Die letzteren, bei perniciöser Anämie in geringer Zahl vorkommend, bedeuten immer eine schwere Form der Anämie, einen Rückschlag in den embryonalen Zustand. Ihr Kern geht durch einfachen Schwund zu Grunde.

Sie kommen bei fieberhaften Prozessen, Septikämie, Verbrennungen. Vergiftungen (Kohlensäure, Morphium), Hungerzuständen und schweren chronischen Anämieen vor.

Kernhaltige rothe Blutkörper finden sich nur im Blut von Embryonen. Nach der Geburt sind die rothen Blutkörper ohne Kern. Wo solche mit Kern gefunden werden, sind sie in Folge pathologischer Prozesse aus dem rothen Knochenmark oder der Milz in das Blut gelangt. Auch bei Leukämie, schweren, einfachen und secundären Anämieen, Malaria kommen solche kernhaltige rothe Blutkörper (Normoblasten) als Vorstufen der rothen Blutkörper vor. Sie haben eine prognostisch günstige Bedeutung. Die Megaloblasten, bei perniciöser Anämie in geringer Zahl vorkommend, bedeuten nach Ehrlich einen Rückschlag in den embryonalen Zustand. Unter Hämatoblasten, Erythroblasten verstehen Einige farblose Vorstufen der rothen Blutkörper. Rothe körnchenhaltige Blutkörper, welche die normalen rothen Blutkörper an Grösse übertreffen, werden von Erb als Uebergangsformen der farblosen zu rothen Körpern betrachtet.

3. Grosse kernlose Erythrocyten, Megalocyten oder Riesenblutkörper von 10—14 μ und starkem Hämoglobingehalt kommen ebenfalls bei schweren Anämien vor, neben kleinen Zwergblutkörpern, Mikrocyten. Da letztere nach Blutverlusten gefunden werden, sind sie vielleicht neugebildete rothe Blutkörper, vielleicht auch Trümmer von Erythrocyten.

4. In sogenannter anämischer Degeneration begriffene Blutkörper, welche neben den oben genannten, aber seltener angetroffen werden, zeichnen sich dadurch aus, dass sie bei Färbung mit Eosin-hämatoxylin oder Eosin-Methylenblau keine homogene Hämoglobinfärbung geben, sondern in Folge Degeneration des Stroma mehr die Kernfärbung annehmen, wodurch ein verwaschener Ton zu Stande kommt. Auch an kernhaltigen Erythrocyten wird mitunter der gleiche Vorgang beobachtet.

5. Die hämoglobinämischen Veränderungen der rothen Blutkörper sind nach Ehrlich durch das Auftreten rothleuchtender Innenkörper bei Färbung mit dem 3fachen Glyceringemisch charakterisirt.

Auch die Widerstandsfähigkeit der rothen Blutkörper ist bei manchen Processen sehr vermindert, wie bei der Cholämie, bei Intoxikation mit Körpern, welche die Blutkörperchen lösen, bei Anomalieen der Blutmischung, bei Infektionen, Verbrennungen, hochgradiger Venosität. Die Verminderung der Widerstandsfähigkeit des Blutes äussert sich dadurch, dass unter den verschiedensten Einwirkungen die Blutkörper rascher und ausgedehnter in Trümmer zerfallen (Hämocytotrypsie) oder sich auflösen (Hämocytolyse).

Die Erythrocyten des Diabetikerblutes nehmen aus einem Farbgemisch (Eosin-Methylenblau) nicht den sauren, sondern den basischen Farbstoff an. (Bremersche Reaktion.) Die Reaktion tritt auch nach Behandlung des nicht fixirten Blutes wie des gelösten Hämoglobins mit Traubenzucker auf.

Die einzelnen Bluterkrankungen.

Anämie. Wir unterscheiden einfach primäre und sekundäre und schwere (perniciöse) Anämieen.

Die einfache primäre Anämie (Chlorose) ist charakterisirt durch Abnahme des Hämoglobingehalts auf 50—40 %, Verminderung des specifischen Gewichts bei normaler Zahl der Erythrocyten.

Bei der schweren Form sinkt die Zahl der Erythrocyten bis 3 Millionen und mehr, der Hämoglobingehalt ebenfalls und die rothen Blutkörperchen sind in ihrer Form verändert (Poikilocytose).

Bei der sekundären Form ist die Zahl der Erythrocyten vermindert und ebenso der Hämoglobingehalt, die Zahl der Leukocyten nicht vermindert, oft sogar vermehrt.

Form und Grösse der rothen Blutkörper ist in der Regel nicht verändert. Mitunter finden sich Poikilocyten und kernhaltige rothe Blutkörper.

Die eigentlich perniciösen (chronischen) Formen der Anämie bieten rücksichtlich des Blutbefundes keine Abweichung von schweren Formen der Anämie, nur ist bei unveränderter Leukocytenzahl die Zahl der Erythrocyten sehr herabgesetzt bis 143 000 (Quincke).

Der Hämoglobingehalt kann bis 12 % gesunken sein, während das einzelne Körperchen keine Abnahme zeigt.

Bei sehr ausgesprochener Poikilocytose ist wenig Neigung zur Rollenbildung vorhanden und die Megalocyten sind vermehrt.

Das Knochenmark ist in verschiedenem Grad in rothes Mark umgewandelt, welches kernhaltige rothe Blutkörper liefert.

Leukämie. Die Vermehrung der Leukocyten ist eine so bedeutende, dass statt wie normal 1 weisses Körperchen auf etwa 500 rothe kommt, nun schon auf 10—20 rothe ein farbloses trifft. In einigen Fällen war sogar das Verhältniss der weissen zu den rothen wie 1,15 : 1,05.

Die rothen Blutkörper sind blasser als sonst und auch in ihrem Durchmesser wechselnd, die Blutplättchen reichlicher. Bei wesentlicher Erkrankung der Lymphdrüsen überwiegen die kleinen Lymphocyten, bei Erkrankung des Knochenmarks die grossen einkernigen Leukocyten: Markzellen[1]) mit neutrophiler und eosinophiler Körnung. Die Milz scheint von untergeordneter Bedeutung für die Vermehrung der Leukocyten. In Ausnahmefällen nehmen auch die polynucleären Zellen ebenso wie die mononucleären zu (Hirschlaff). Mitunter finden sich im leukämischen Blut Charkot'sche Krystalle.

Leukocytose. Eine vorübergehende physiologische Vermehrung der weissen Blutzellen finden wir in der Verdauung, in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft (10—16 000 Leukocyten pro cmm). Ein Drittheil der Leukocyten gehört mononucleären Formen an.

[1]) Markzellen und eosinophile Zellen zeigen keine aktive Bewegung.

Bei Neugeborenen besteht ebenfalls eine Leukocytose in den ersten Tagen. Die Vermehrung betrifft die ein- und mehrkernigen Formen, besonders die kleineren einkernigen Formen. Auch die Zahl der eosinophilen Zellen ist vermehrt. Bei Neugeborenen finden sich auch noch kernhaltige Erythrocyten.

Bei der pathologischen Leukocytose, welche sich bei chronischen kachektischen Processen, nach Blutverlusten, Hydrämie und kurz vor dem Tode findet, sind bald die einkernigen, bald die polynucleären Leukocyten vermehrt.

Die entzündliche Leukocytose findet sich bei Pneumonie und anderen Infektionskrankheiten (Anthrax, Puerperalfieber, Erysipel, Gelenkrheumatismus, Diphtherie), Rekurrenzfieber, Osteomyelitis, nach Tuberkulineinspritzung, dagegen nicht bei Typhus, Masern. Die Vermehrung der Leukocyten beträgt nach dem Schüttelfrost bei Pneumonie 20—60 000 pro cmm.

Die Vermehrung trifft besonders die mehrkernigen Formen; die Lymphocyten sind mitunter vermindert (polynucleäre, neutrophile Leukocytose), die eosinophilen Zellen sind mitunter vermehrt (polynucleäre, eosinophile Leukocytose).

Pseudoleukämie. Das Blut zeigt mitunter im Anfang der Störung die normalen Verhältnisse, später mit der allmählichen Ausbildung der Anämie eine Verminderung der Erythrocyten auf 1,5—2 Millionen, bei geringer Vermehrung der farblosen Elemente.

Hämoglobinämie. Mikroskopisch findet sich geringe Neigung der Erythrocyten zur Säulenbildung, Poikilocytose und entfärbte Blutkörper (Schatten).

Die Hämoglobinämie findet sich nach Vergiftungen mit chlorsauren Salzen (Methämoglobinämie), Pyrogallussäure, Arsenwasserstoff, Sulfonal, Antifebrin, frischen Morcheln, im Anschluss an Infektionskrankheiten (Scharlach, Typhus, Malaria, Syphilis), nach Einwirkung extremer Temperaturen, nach Transfusion von Thierblut auf den Menschen und als spontane, paroxysmale oder intermittirende Form (körperliche Anstrengung, Kälte).

Untersuchung von Fibrin.

Durch Doppeltärbung von Hämatoxylin und Eosin ist häufig das Fibrin (Exsudat in den Alveolen bei fibrinöser Pneumonie und diphtheritischen Belägen) nachzuweisen.

Eine sehr geeignete Methode zum Nachweis des Fibrins ist die nur durch die Entfärbungsflüssigkeit etwas modificirte Bakterienfärbung Weigert's.

Weigert's Fibrinfärbung.

1. Alkoholhärtung.
2. Färbung 5—15 Minuten lang in concentrirter Anilinwassergentianaviolettlösung.

3. Abspülen in 0,6procentiger Kochsalzlösung.
4. Abtrocknen mit Fliesspapier auf dem Spatel oder Objektträger.
5. Wiederholtes Auftropfen von Jodjodkaliumlösung 1 : 2 : 100 oder gesättigter Lösung von Jod in 5procentiger Jodkalilösung auf den Objektträger oder Spatel.
6. Abtrocknen mit Fliesspapier.
7. Entfärben in Anilinöl-Xylol (2 : 1).
8. Entfernung des Anilin-Xylols durch Xylol.
9. Kanadabalsam.
   Celloidin braucht nicht entfernt zu werden.

Das Fibrin und seine hyalinen Derivate (hyaline Massen in Kapillaren bei Infarkten) werden intensiv blau, ebenso die etwa vorhandenen Organismen; Blutplättchen werden nicht gefärbt. Bei kurzer Einwirkung des Anilinxylols erscheinen auch Kerne und Bindegewebsbündel blau. Doppelfärbung wird durch Vorfärbung mit Karmin (Lithionkarmin) erhalten.

Fibrinfärbung nach Beneke.

Durch stärkeren Zusatz von Xylol zum Anilinöl (Anilinöl 2, Xylol 3 Theile) schwächt Beneke die entfärbende Wirkung des Anilinölxylols ab und erreicht damit neben der Fibrinfärbung auch Tinktion anderer Theile, der Kerntheilungsfiguren, der Bindegewebsfasern, der elastischen Fasern, die in rother Farbe sich scharf von den dunkelblauen Bindegewebsfibrillen abheben, der Knochenfibrillen, der Sharpey'schen Fasern, der Querscheiben der quergestreiften Muskulatur, der Neuroglia, Kerne der Ganglienzellen und Fibrillen des Plattenepithels.

Die Dauer der Entfärbung ist verschieden und muss bei den einzelnen Theilen immer durch probeweises Einlegen in Xylol ermittelt werden.

Fremde Bestandtheile im Blut. Betreffs der Untersuchung auf Mikroorganismen sei auf die bezüglichen Abschnitte verwiesen.

Geschwulstelemente, welche in Fällen von metastasirender Tumorbildung im Blute cirkuliren, wird man bei Untersuchung von Kapillarblut, wie man es durch einen Nadelstich oder einen Schröpfkopf erhält, wohl kaum zu erwarten haben; gewöhnlich sind sie nur dann charakteristisch, wenn sie erhebliche Dimensionen haben, in welchem Falle sie dann die engen Kapillaren nicht passiren.

Untersuchung von Blutflecken. Auf Holz, Wäsche, Kleidungsstoffen etc. eingetrocknetes Blut wird in Kochsalzlösung von circa 7 % aufgeweicht. Oft gelingt es noch, die Blutkörperchen, mitunter sogar noch gut erhalten, nachzuweisen. Da das Blut des Menschen und der Säugethiere nur runde Blutscheiben besitzt, wird man am eingetrockneten Blut gewöhnlich mit voller Sicherheit entscheiden können, ob es von einem Säugethiere (einschliesslich des Menschen) oder etwa einem Vogel etc. herrührt. Weiter geht aber unsere Kunst nicht; es ist nicht möglich.

die Blutkörperchen mit Sicherheit als menschliche zu diagnosticiren. Die meisten Säugethiere haben allerdings etwas kleinere Blutkörperchen als der Mensch; Schaf- und Ziegenblutkörperchen sind im Mittel nur wenig über halb so gross wie menschliche; andere Thiere, z. B. der Hund, nähern sich dagegen in dieser Beziehung sehr dem Menschen. Jedenfalls thut man gut, bei der Beurtheilung von Blutflecken nicht weiter zu gehen, als gegebenen Falls zu erklären, dass es sich um Säugethierblut handelt; die Grössenverhältnisse sind bei der Verschiedenheit des Eintrocknungsmodus und bei der Verschiedenheit des Anquellens in der benutzten Zusatzflüssigkeit je nach dem Alter des Flecks etc. nicht absolut sicher zu verwerthen.

Oft müssen wir uns mit dem Nachweis des Blutfarbstoffs durch die Herstellung der Häminkrystalle (des Teichmann'schen salzsauren Hämatins) begnügen, welche selbst nach jahrelangem Eintrocknen ohne Schwierigkeit erhalten werden, falls das Blut nicht durch vorgeschrittene Fäulniss, Sonnenlicht, chemische Einwirkung (Gegenwart von Metallsalzen, wie Rost) zu sehr geschädigt ist.

Die Häminprobe besteht in der Erwärmung des Blutes mit Kochsalz und Eisessig.

Zunächst wird von dem zu untersuchenden Objekt mit destillirtem Wasser, sei es in einem Uhrschälchen oder bei geringer Blutmenge auf dem Objektträger, ein wässriger Auszug hergestellt. Man lässt nun die so erhaltene rothe Flüssigkeit auf dem Objektträger etwas eintrocknen, fügt eine Spur physiologischer Kochsalzlösung und einen Tropfen Eisessig hinzu und erwärmt über der Weingeistflamme, bis sich Blasen bilden. Damit die Verdampfung nicht zu rasch erfolgt, wird wiederholt ein Tropfen Eisessig zugefügt. Verdampfung bis zur Trockne ist zu vermeiden. Zu starke Erhitzung (über 42°) beeinträchtigt die Bildung der Krystalle.[1])

Nach Erkalten des Präparates scheiden sich die braunen Häminkrystalle in rhombischen Täfelchen ab, die in Wasser, Aether, Alkohol unlöslich sind, in Ammoniak, verdünnter Schwefelsäure und Salpetersäure schwer, in Kalilauge leicht sich lösen.

Von diesen künstlich hergestellten Krystallen unterscheiden sich die des Hämatoidins, welche ebenfalls in rhombischer Form in älteren Blutextravasaten, in den gelben Körpern der Ovarien etc., theils frei, theils im Innern von Zellen eingeschlossen gefunden werden. Sie sind von lebhaft orangerother Färbung und enthalten kein Eisen; in Chloroform lösen sie sich und haben die grösste Aehnlichkeit mit dem Bilirubin, mit dem sie vermuthlich indentisch sind.

Die Hämoglobin-Krystalle kommen, so viel bis jetzt bekannt, bei Menschen im Leben nicht vor (während sie u. A. beim Meerschweinchen

[1]) Zusatz von Kochsalz in Lösung oder in Substanz ist nicht immer nöthig. Auch muss der Blutauszug nicht nothwendig eingetrocknet sein. Aehnlich wie Essigsäure wirken auch einige andere Säuren.

im Uterus post partum in Masse gefunden werden); man kann sie auf verschiedene Weise darstellen, z. B. durch Einwirkung von concentrirter Pyrogallussäurelösung auf Blut, das vorher mit destillirtem Wasser verdünnt wurde.

---

14. Kapitel.

Untersuchung des Gefässapparates.

Die feinsten und feineren Gefässe untersucht man am besten, wo es angeht, an Isolirungspräparaten (Gehirn). Etwas grössere Gefässe werden auf Schnitten der verschiedenen Organe untersucht. Für die grossen Gefässe reichen oft schon Schnitte durch die getrockneten Stücke aus, die mit Pikrokarmin oder Hämatoxylin gefärbt werden.

Für die Darstellung der Kittlinie zwischen den Endothelzellen übergiesst man entweder die Intima der grossen Gefässe mit einer Lösung von 1 % Höllenstein und spült dann ab, oder man injicirt die blutleeren Gefässe mit einer solchen Lösung, wäscht dann die betreffenden Organe aus, härtet in Alkohol und schliesst dann ein.

Zur Härtung der Gefässe kann sowohl Müller'sche Flüssigkeit wie Alkohol oder Formol verwendet werden. Zur Einbettung dient Celloidin und Paraffin.

Das Herz wird frisch oder nach Härtung in Müller an Zupfpräparaten untersucht. Conservirung wie die der grösseren Gefässe. In Paraffin wird der Muskel leicht etwas zu hart.

Veränderungen an den Klappen werden nach Alkoholhärtung und Einbettung auf Schnitten untersucht. Für die Untersuchung der frischen Objekte dienen Klatsch- und Zupfpräparate.

---

15. Kapitel.

Untersuchung des Respirationsapparates und des Sputums.

Härtung in Müller'scher Flüssigkeit und Nachhärtung in Alkohol, Härtung in Sublimat oder Formol. Für Untersuchung auf Spaltpilze und Fibrin Alkohol- oder Formolhärtung; Oedemflüssigkeit wird durch Kochen oder Alkohol absol. fixirt.

Für Härtung grösserer Stücke werden die Bronchien mit der Härtungsflüssigkeit gefüllt. Meist genügt die Einbettung kleiner Stücke

des gehärteten Organs. Für besondere Zwecke kann man auch von den Bronchien Celloidin injieiren. Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin.

Untersuchung des Sputums.

Zuerst wird makroskopiseh festgestellt, was für Substanzen in dem Sputum unterschieden werden können, das ja stets ein Gemenge aus mehrerlei Stoffen darstellt, die auch von verschiedenen Orten herstammen. Besonders hat man dabei auf undurehsichtige, weisse oder grauweisse Pfröpfe zu aehten, die am besten hervortreten, wenn das Sputum in dünner Sehicht auf einen schwarz angestrichenen Porzellanteller ausgegossen wird; gerade in diesen Pfröpfchen findet man meist die elastischen Fasern, die dann als abgelöste Stüekehen einer Cavernenwand anzusehen sind. Aueh die sogenannten Asthmakrystalle finden sich gewöhnlich im Innern von etwa hirsekorngrossen, grünliehweissen Pfröpfchen, die sehon mit blossem Auge in der sonst hellen Substanz des Sputums, und zwar auch bei einfaehen Katarrhen, zu unterscheiden sind. Eine Vernaehlässigung einer genauen makroskopischen Untersuehung führt oft genug Misserfolge und negative Resultate nach sich. Von den verschiedenen, oft sehichtenweise über einander gelagerten Partien werden dann mikroskopische Präparate gemacht, indem man ein Stück der schleimigen Substanz mit Nadel und Spatel auf den Objektträger bringt und mit dem Deckglase bedeekt. Nur in gewissen Fällen wird eine Zusatzflüssigkeit zur Verdünnung (Koehsalzlösung oder destillirtes Wasser) nothwendig werden. Man beginnt die mikroskopisehe Untersuehung mit schwacher, etwa 50—80maliger Vergrösserung und geht erst, naehdem man das ganze Präparat bei dieser Vergrösserung kennen gelernt hat, zu der stärkeren Linse über. Die elastischen Fasern sind gewöhnlich schon bei sehwacher Vergrösserung einigermaassen kenntlieh.

Die mit der schwaehen Vergrösserung als different erkannten Partien des Präparats werden dann mit der starken Linse näher analysirt; erst dann wird die mikroskopische Diagnose gestellt.

Bei der Untersuchung der Sputa wird man fast stets auf Verunreinigungen der verschiedensten Art stossen. Niemals wird man erwarten dürfen, den Inhalt des Bronchialbaumes rein vor sieh zu haben; mindestens sind stets die Sekrete des Mundes, der Speicheldrüsen und des Rachens mit beigemengt. Man muss demnaeh diese genau kennen lernen.

In den Mundflüssigkeiten finden sich normaler Weise stets reichliche Epithelien der Mund- und Rachenschleimhaut; diese grossen, unregelmässig gestalteten Platten, die mit Säuren oder Alkalien zu kugeligen Blasen aufquellen, sind meist mit Schizomyceten besetzt. Bei katarrhalischen Zuständen der Mund- und Rachenschleimhaut kommen auch lebende Epithelien in der Mundflüssigkeit vor, welche buckelförmige Fortsätze treiben und schwache, amöboide Bewegungen machen.

Oft werden auch bei Mundkatarrh die oberen Schichten der Epithelzellen in continuo abgestossen; besonders zahlreich finden sich im Zungenbelag bei solchen Individuen die besenartigen Spitzen der Papillae filiformes, die aus verhornten, fest aneinander haftenden Epithelzellen bestehen.

Ferner finden wir reichliche Rundzellen, Schleim- oder Speichelkörperchen, welche aus den Schleim- oder Speicheldrüsen und zwar besonders aus der Submaxillaris und Sublingualis, zum kleineren Theil wohl auch aus den tieferen Schichten des geschichteten Plattenepithels und den Tonsillen stammen. Ursprünglich sind es kleine amöboide Zellen, analog den Lymphkörperchen etc.: sie verändern sich aber unter dem Einfluss des dünnen Parotisspeichels derart, dass sie kugelförmig anquellen und eine Grenzmembran im Gegensatze zu dem hellen Inhalt hervortreten lassen; der letztere beherbergt einen oder zwei rundliche Kerne, ausserdem eine grosse Zahl feiner Körnchen, die stets in lebhafter, tanzender Bewegung begriffen sind. Diese Körnchen sind nicht etwa parasitäre Organismen, wenigstens färben sie sich in basischen Anilinfarbstoffen niemals; die lebhafte Bewegung derselben ist nicht als ein vitales Phänomen, etwa analog den Protoplasmaströmungen in Pflanzenzellen, aufzufassen.

Ferner aber finden sich frei in den Mundflüssigkeiten reichliche Mikroorganismen der verschiedensten Art; steife lange Leptothrixfäden von verschiedener Breite, kugelige Kokken verschiedener Grösse, oft in Ketten oder in kompakten Haufen angeordnet, Bacillen, auch sogenannte Kommabacillen und sehr elegante Formen von Spirochäten, die in ihrer Gestalt und schlängelnden Bewegung den Spirillen des Rekurrenzblutes sehr ähnlich sind, nur gewöhnlich erheblich grössere Dimensionen als jene erreichen. Seltener wird auch Sarcine angetroffen. Je geringere Sorgfalt ein Individuum auf die Säuberung seiner Mundhöhle verwendet, in desto reicheren Massen pflegen sich die Mikroorganismen anzusiedeln; indessen fehlen sie selbst bei der grössten Reinlichkeit niemals vollständig. Verschiedene Species derselben betheiligen sich an der cariösen Zerstörung der Zähne. Bei Uebertragung auf Thiere finden sich eine ganze Anzahl von pathogenen Spaltpilzen in der normalen, menschlichen Mundflüssigkeit.

Sprosspilze sind in den Mundflüssigkeiten nur zuweilen in grösserer Quantität vorhanden, dagegen finden wir eine Species von Fadenpilzen, den Soorpilz: Oidium albicans, sehr häufig darin; bekanntlich am häufigsten bei Kindern, die mit Milch genährt werden, und auch bei Erwachsenen, z. B. bei Phthisikern etc. Es sind verzweigte, gegliederte Fäden mit ovalen Sporen, die zwischen den Epithelzellen der obersten Schicht und auf der Oberfläche selbst ein mehr oder minder dichtes Mycelium bilden.

Ausser diesen Elementen kommen in der Mundflüssigkeit oft allerhand Speisereste, vegetabilische und thierische, vor; selbst viele Stunden lang nach der Mahlzeit behalten viele Personen in ihrer Mundhöhle, besonders zwischen den Zähnen oder in cariösen Höhlen dieser, mikroskopische Proben des Genossenen, die bei der Untersuchung des Auswurfs den Anfänger oft genug in Erstaunen und in Verlegenheit setzen.

Auch der schleimig-flüssige Inhalt der Nasenhöhle, dem oft Blut beigemischt ist, kann als Verunreinigung in dem Auswurf gefunden werden; weiterhin der Inhalt von Abscessen, die sich in die Mund- und Rachenhöhle hinein öffnen (Zahn- und Kieferabscesse, tonsillare und retropharyngeale Abscesse).

Besonders zu bemerken sind in dieser Richtung die kleinen, bis über Erbsengrösse erreichenden Concremente, die sich oft in den Buchten der Tonsillen durch Kalkinkrustation des retinirten Sekretes bilden und gelegentlich, etwa bei einem Hustenstoss, entfernt werden. Der Patient, oft auch der Arzt, wird durch einen derartigen vermeintlichen Lungenstein sehr beunruhigt; bei der mikroskopischen Untersuchung stellt man sehr leicht die richtige Diagnose. Durch Zusatz von verdünnter Salzsäure wird der Kalk gelöst, es restiren dann die grossen verhornten Epithelzellen, die zuweilen in Form von concentrischen Kugeln angeordnet sind; ausserdem massenhafte Mikroorganismen, auch Tuberkelbacillen.

Erst nachdem man sich mit allen diesen, accidentellen Elementen genau bekannt gemacht hat, kann man mit Vortheil an die mikroskopische Untersuchung des Auswurfs gehen. Der Hauptbestandtheil ist ein Absonderungsprodukt der Respirationsschleimhaut, eine schleimige Flüssigkeit mit mehr oder minder reichlichen darin befindlichen Rundzellen. Während das Sekret der Schleimhaut des Rachens und des oberen Theils des Kehlkopfes, soweit er geschichtetes Plattenepithel trägt, stets sehr reich an desquamirten Epithelzellen ist, findet dagegen in dem übrigen Respirationstraktus, in dem unteren Theil des Kehlkopfes, Trachea und Bronchien, also überall da, wo die Schleimhaut mit hohem, cylindrischem Flimmerepithel besetzt ist, eine Epitheldesquamation nur in seltenen Fällen statt. Flimmerzellen oder Reste derselben werden darum seltener im Sputum gefunden.

Der glasig-durchsichtige Antheil der Sputa ist arm an geformten Elementen; je reicher die letzteren, desto trüber, undurchsichtiger wird das Sputum. Der maximale Reichthum an Rundzellen findet sich in dem eitrigen Sputum, dessen Zellen gewöhnlich schon reichliche feine Fettkörnchen enthalten, welche ihrerseits die Undurchsichtigkeit vermehren und den gelblichen Farbenton bedingen. Die Rundzellen sind in den meisten Fällen bereits abgestorben, starr, bestehen aus dunkelkörnigem Protoplasma und einem oder mehreren Kernen. Die Protoplasmakörnung ist meist so stark, dass der Kern resp. die Kerne verdeckt werden; durch Essigsäure treten diese dann deutlicher hervor, indem die Protoplasmakörner grösstentheils verschwinden.

Die meisten der Rundzellen, die wir im Sputum finden, sind etwa von der Grösse der weissen Blutkörperchen oder wenig darüber, wenigstens zum grossen Theil sind sie als emigrirte, weisse Blutkörper aufzufassen, ein anderer Theil derselben mag aus den Schleimdrüsen oder aus dem entzündeten Gewebe der Schleimhaut herstammen.[1]) Ausserdem aber findet man nicht selten auch grössere. epithelähnliche Rundzellen, charakterisirt durch eine scharfe, ungefähr kreisförmige Kontur und durch einen bläschenförmigen Kern; d. h. der Kern (seltener auch

[1]) Bei Asthma, Bronchitis und im Nasenschleim, nicht aber bei Phthisis und Bronchitis foetida fand Gollasch Leukocyten mit eosinophilen Granulationen.

die zwei Kerne) wird durch eine dunkle, scharf gezogene Linie begrenzt, sein Inneres ist hell und enthält ein oder mehrere Kernkörperchen. Macht man Tinktionen (am besten am erhitzten Trockenpräparat mit basischen Anilinfarbstoffen), so färben sich die Kerne dieser epithelähnlichen Zellen nicht so intensiv und gleichmässig dunkel, wie die der gewöhnlichen, kleinen Rundzellen, sondern lassen ebenfalls den Unterschied zwischen dunkel gefärbter Peripherie und heller Mitte erkennen. In dem Protoplasma dieser grösseren Zellen findet man ab und zu ebenfalls einige Fettkörnchen, oft auch schwarzes Pigment in Form von kleinsten Körnchen oder auch von unregelmässigen Schollen, sogenanntes Lungenpigment, das sich meist schon makroskopisch durch rauchgraue Flecken und Streifen zu erkennen giebt. Diese schwarzen Körnchen und Schollen in den Zellen sind nun sämmtlich als inhalirter Kohlenstaub aufzufassen, der auf der schleimigen Oberfläche des Respirationstraktus niedergefallen und festgehalten, nachträglich dann in das Innere von amöboiden Zellen aufgenommen worden ist.

Bei Individuen, welche viel Gelegenheit haben, Kohlenstaub einzuathmen, z. B. Kohlenarbeiter, bei starken Rauchern, fehlen diese pigmentirten Zellen in dem Sekret der Rachen- und Respirationsschleimhaut fast nie; indessen hat jeder Mensch, der unter unseren Kulturzuständen lebt, grösstentheils in geheizten, geschlossenen Räumen, selbst im Freien unter dem Einfluss russender Schornsteine, bei jedem Athemzuge Gelegenheit, Kohlenstaub in feinster Vertheilung in seinen Respirationsapparat einzuführen. Je mehr Schleim auf der Oberfläche des Respirationstraktus abgesondert wird, desto mehr von dem Kohlenstaub wird retinirt; ein Theil davon wird durch Hülfe amöboider Zellen in das interstitielle Gewebe der Lungen und in die Lymphdrüsen derselben eingeschleppt, ein anderer Theil wird mit dem Sputum wieder entfernt.

Eigentliches, d. i. im Organismus selbst entstandenes Pigment kommt in den Sputis ebenfalls theils frei, theils in grösseren unregelmässigen Zellen aus den Alveolen (Herzfehlerzellen) stammend vor; es charakterisirt sich sofort durch die bräunliche Farbe und deutet entweder auf eine vorangegangene Hämorrhagie oder auf eine Stauung im Lungenvenensystem mit Austritt rother Blutkörperchen und Pigmentumwandlung derselben (braune Induration der Lunge). Zuweilen finden sich auch Hämatoidinkrystalle.

In den besprochenen grösseren epithelähnlichen Rundzellen der Sputa kommen nicht selten noch homogene, mattglänzende Körnchen vor, welche wegen einer rein äusserlichen Aehnlichkeit als „Myelinkörner“ bezeichnet werden; über ihre Natur und Bedeutung ist etwas Sicheres nicht bekannt.

Diese grösseren Rundzellen finden sich auch in dem morgendlichen Sputum von ganz gesunden Menschen[1]) und bei einfachen Bronchial-

[1]) Vgl. Guttmann und Smidt, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 3. Panizza, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1881. Bizzozero, Centrbl. f. klin. Med. 1881. S. 529.

katarrhen in Haufen. Ob sie wirklich in allen Fällen als desquamirte Epithelzellen der Lungenalveolen anzusehen sind, ist in hohem Grade unsicher; im Gegentheil ist es wahrscheinlich, dass unter Umständen gewöhnliche Wanderzellen (lymphoide Zellen etc.) in derartige epithelähnliche Elemente umgewandelt werden können.

Von sonstigen zelligen Elementen findet man zuweilen Fettkörnchenzellen (bei subakut-pneumonischen Processen) und als Seltenheit auch Riesenzellen (bei tuberkulöser Phthisis).

Elastische Fasern. Fibrinausgüsse. Asthmakrystalle. Spiralfäden.

Der Befund von elastischen Fasern im Sputum ist von Bedeutung, indem wir durch denselben direct den Zerstörungsprocess im Innern der Lunge nachweisen. Man findet sie meist in den beschriebenen, undurchsichtigen Pfröpfen; durch Zusatz von starker Essigsäure oder Kalilauge gelingt es, auch dicke Partien dieser Pfröpfe durchsichtig zu machen, dass die elastischen Fasern sehr schön hervortreten. Oder man übergiesst das Sputum mit Natronlauge, schüttelt, lässt absetzen, dekantirt und untersucht den Bodensatz. Alles Andere ist durch die Lauge zerstört, nur die elastischen Fasern sind noch übrig. Der Anfänger hält zuweilen kleine Stückchen von Baumwollenfasern etc., die ebenfalls der Essigsäure widerstehen, für verdächtig; auch Fettsäurenadeln, die in den Sputis bei putrider Bronchitis, Lungengangrän und ähnlichen Affektionen oft in grosser Menge vorkommen, können in ihren langen, geschwungenen Formen möglicher Weise Anlass zur Verwechselung geben; bei leichter Erwärmung schmelzen sie und wandeln sich in kleine Fettkörnchen um. Man mache es sich zur Regel, nur dann elastische Fasern zu diagnosticiren, wenn mehrere derselben zusammenliegen und durch ihren charakteristischen, geschwungenen Verlauf deutlich erkennen lassen, dass das Gerüst einer Alveolenwand vorliegt. Oft genug findet man grössere, zusammenhängende, mehrere Alveolen umfassende Stücke des Lungengerüstes; je reichlicher und je grösser diese (mikroskopischen) Lungenfetzen, einen desto schwereren und rapideren Zerstörungsprocess wird man annehmen müssen.

Bei Lungengangrän vermisst man zuweilen in den mikroskopisch erkennbaren, ausgehusteten Lungenfetzen die elastischen Fasern; diese werden nämlich in putriden Flüssigkeiten allmählich aufgelöst. Traube, der auf dieses Verhalten aufmerksam machte, erblickte hierin ein diagnostisches Kriterium gegen den Lungenabscess, innerhalb dessen die elastischen Fasern sich länger conserviren. Auch bei der gewöhnlichen Verkäsuug in der Lunge gehen die elastischen Fasern, allerdings nur sehr allmählich, verloren.

Fibrinöse Massen kommen ebenfalls unter bestimmten Verhältnissen in den Sputis vor, und zwar grobe Fibrinausgüsse der Bronchien bei croupöser Bronchitis und Fibrinausgüsse der feineren Bronchien bei der acuten Pneumonie (Remak). Saenger fand sie in 94 % der Fälle. Die schon mikroskopisch erkennbaren, dichotomisch verzweigten Fibrinmassen zeigen mikroskopisch die bekannte Zusammensetzung aus einem Filz feiner Fasern, die mit Essigsäure aufquellen und verschwinden, mit reichlichen eingelagerten Rundzellen und massenhaften Schizomyceten.

Die Asthmakrystalle sind sehr spitze Octaëder, die im Sputum von Asthmatikern während des Anfalls in den Pfröpfen in grosser Menge gefunden werden, während sie in der anfallsfreien Zeit gewöhnlich fehlen. Uebrigens wurden sie zuweilen auch ohne Asthma im Sputum angetroffen, sind also nicht etwa specifisch für diese Krankheit. Sie sind vollständig analog den Krystallen, die im Sperma, im Knochenmark und Blut, besonders bei Leukämie, und an verschiedenen anderen Orten gefunden wurden, und die nach Schreiner aus dem phosphorsauren Salz einer organischen Base bestehen.

Oft finden sich die erwähnten Krystalle eingebettet in eigenthümlich spiralförmig gewundene fädige Massen aus Schleim, die man als Exsudationsprodukt der feinsten Bronchien aufzufassen hat. Diese Spiralen (Curschmann's) finden sich ausser bei Asthma zuweilen auch in Fällen von acuter fibrinöser Pneumonie.

Mikroorganismen.

Die aus der Mundflüssigkeit stammenden Schizomyceten lassen sich durch wiederholtes vorsichtiges Abspülen der Sputumklümpchen zum Theil entfernen. Hierzu kommen noch die aus dem Respirationsapparat selbst stammenden Formen, z. B. bei Bronchitis putrida und diphtheritica, bei eitrigem Bronchial- und Trachealkatarrh, bei Pneumonie, Actinomycose etc. Die grüne Färbung des Sputums wird durch verschiedene Bakterien bewirkt, welche in dasselbe gelangten (Raçen d. Bacill. pyocyan.).

Tuberkelbacillen. Bei Anwendung der Färbungsmethode hat sich herausgestellt, dass die specifischen Tuberkelbacillen im Sputum der Phthisiker fast niemals fehlen, oft schon sehr früh sich finden, wenn die übrigen Symptome noch Zweifel über die Erkrankung lassen, und dass andererseits ihr Vorkommen ein absolut sicheres Kriterium für die tuberkulös-phthisischen Processe abgiebt. Fehlen sie dennoch oft, wenn eine vorhandene Phthisis nicht mehr fraglich sein kann, so erklärt sich dies daraus, dass eben noch kein Zerfall eingetreten ist.

Herstellung des Sputum-Trockenpräparates.

Das Sputum muss vor Allem in möglichst dünner Schicht auf dem Deckgläschen ausgebreitet sein. Dies erreicht man, indem man das mit

einer Platinöse gefasste Sputumklümpchen auf dem Deckgläschen möglichst gleichmässig vertheilt. Näheres siehe Deckglas-Trockenpräparat S. 194.

Für die Untersuchung des Sputums verwendet man am besten den Morgenauswurf, den man in ein reines etwas weites Reagenzglas geben lässt, welches durch Wattpfropfen verschlossen wird.

Der Auswurf wird, um dessen Theile besser erkennen zu können, in einen schwarz angestrichenen Teller, oder in ein Gefäss aus schwarzem Hartgummi oder Papiermaché, oder einer grösseren Flaehglasschale, die man auf ein Blatt schwarzes Papier oder Wachstuch stellt, gegossen.

Verdünnung des Sputums. Um eine bessere Ausbreitung des Sputums zu erzielen, giesst man zu demselben reines Wasser. Eine gleichmässige Vertheilung der Tuberkelbacillen wird erreicht, wenn man das Sputum je nach Bedarf mit einer mehr oder weniger concentrirten Boraxlösung versetzt und darauf die Misehung schüttelt. Siehe unten Sedimentirung. Geballtes Cavernensputum lässt sich auch dureh wässrige Lösung von kohlensaurem Ammoniak oder Natronlauge vorbereiten.

Man fasst von den zähen Klümpchen des frischen Sputums einige mit zwei reinen Präparirnadeln oder der vorher geglühten Platinnadel und überträgt sie auf das reine Deckglas. Um aueh vereinzelte Tuberkelbacillen im Sputum oder anderen Flüssigkeiten naehzuweisen, bedient man sich des Sedimentirungsverfahrens.

Sedimentirungsverfahren von Biedert. Circa 15 ccm des Sputums werden mit circa 2 Esslöffel voll Wasser und je nach der Zähigkeit des Sputums 7—8 Tropfen Natronlauge (ausnahmsweise 15[1]) auf 1 Esslöffel Sputum gegeben, vermiseht unter Umrühren, in reiner Schale gekocht und allmählich noeh 4—6 Esslöffel Wasser zugefügt. Die so gewonnene dünnflüssige Masse lässt man 2 Tage lang in einem Spitzglas sedimentiren, giesst ab und untersucht das Sediment, welehes man, da es an Klebrigkeit etwas verloren hat, zum Aufkleben mit ursprüngliehem Sputum versetzt.

Dahnen[2]) hat durch eine Modifikation dieses Verfahrens ein raseheres Niederfallen der festeren Theile erzielt, indem er das Sputum 15 Minuten in einem Reagenzglas in siedendem Wasser oder Dampfbad erhitzte (Kochen ist zu vermeiden). Die festen Theile, welehe die Mikroorganismen mit sich reissen, können nach Abgiessen der Flüssigkeit sofort untersucht werden. Der so gewonnene krümlig käsige Niederschlag wird, um eine gleichmässige Vertheilung des Sputums zu erzielen, in einem Achatmörser fein verrieben und dann auf Deckgläsehen ausgebreitet. Das Verfahren gestattet eine bessere Ausbreitung des Sputums.

---

[1]) Mehr Natronlauge beeinträchtigt die Bacillenfärbung.
[2]) Münchener med. Wochenschrift. No. 38. 1891.

Sedimentirungsverfahren von Strohschein.[1]) 5—10 ccm Sputum werden in einem mit Glasstopfen versehenen Schüttelgefäss je nach der Consistenz mit der 1—3fachen Menge einer Mischung von Boraxborsäurelösung in Wasser im Verhältniss von 1 : 3 versetzt und 1—2 Minuten kräftig geschüttelt, bis sich keine gröberen Flöckchen mehr zeigen. Die geschüttelte Flüssigkeit lässt man 24—48 Stunden sedimentiren. Nach Abgiessen entnimmt man mit der Pipette etwas von dem Sediment und breitet es mit der Pipettenspitze auf Deckglas aus.

Quantitative Bestimmung der Tuberkelbacillen im Sputum.

In vielen Fällen ist es wünschenswerth, über die Vermehrung oder Verminderung der Tuberkelbacillen sich zu orientiren. Hierzu ist ihre möglichst gleichmässige Vertheilung in dem zu untersuchenden Auswurf nöthig. Man verdünnt diesen mit sterilisirtem Wasser oder Boraxborsäurelösung in der gleichen bis doppelten Menge und schüttelt in einem sorgfältig gereinigten und mit Glasstöpsel verschlossenen Cylinder zwei oder mehrere Minuten kräftig. Von diesem Gemisch entnimmt man mit einer Pipette von 1—10 ccm Inhalt, die in 100 resp. 200 Theile getheilt ist, eine kleine schaumfreie Menge und lässt davon 0,01 ccm auf das Deckgläschen fliessen, wo sie mit der Spitze der Pipette gleichmässig bis zum Rande ausgebreitet wird.

Ritter[2]) hat vorgeschlagen, die Bestimmung der Bacillenzahl nach Analogie der Bestimmung der Sehschärfe durch eine einfache Bruchformel anzugeben. Der Zähler ist die Zahl der gefundenen Bacillen, der Nenner die Zahl der Gesichtsfelder.

$\frac{1}{I}$ bezeichnet einen Bacillus im Gesichtsfeld, $\frac{1}{IV}$ einen Bacillus in vier Gesichtsfeldern.

Die Färbungsmethode der Tuberkelbacillen im Sputumpräparat ist dieselbe, wie wir sie früher für das Deckglastrockenpräparat angegeben haben. S. S. 224 und f.

Eine Grundfärbung (Vesuvin bei Blaufärbung der Bacillen, Malachitgrün oder Methylenblau bei Rothfärbung der Bacillen) erleichtert wesentlich das Aufsuchen der Tuberkelbacillen.

Am leichtesten werden die Bacillen wahrgenommen bei Färbung des Untergrundes in der complementären Farbe (Fuchsinfärbung der Bacillen. Grünfärbung des Grundes).

Andrejew[3]) empfiehlt folgendes Verfahren:

1. Färbung nach Ziehl, Neelsen, Entfärben und Färbung des Grundes in einer

---

[1]) Beiträge zur Untersuchung tuberkulöseu Sputums. Mittheilungen aus Dr. Brehmer's Heilanstalt f. Lungenkranke in Görbersdorf, herausgegeben von Dr. Herm. Brehmer. Wiesbaden. 1889.
Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie uud mikroskopische Technik. 1889.
[2]) Deutsche med. Wochenschrift 1893, No. 24.
[3]) Centralblatt f. Bakteriologie. 1897. Bd. 22.

2. heissen 10procentigen Lösung von Kali chloric. . . 100 cm
   Säuregrün . . 1 gr
   25procentigem Acid. sulf. pur. 15 ccm (specifisches Gewicht 1,182 bei 157 °).
   Die Lösung wird geschüttelt und dann filtrirt.
3. Eintauchen des Deckglases in die dunkelgrüne Flüssigkeit, bis der Grund makroskopisch gleichmässig grün oder blaugrün erscheint, 1 Minute.
4. Abspülen in Leitungswasser.
5. Abtrocknen mit Fliesspapier.

Das Guineagrün hält sich in der Lösung 7—10 Tage. Nach dieser Zeit muss neue Farbe zugesetzt werden. Säuregrün hält sich etwas länger.

Für Massenfärbung von Sputumpräparaten, wie solche in grösseren Krankenhäusern oft vorkommt, ist der von Hofmeister[1]) beschriebene Apparat recht brauchbar, welcher gestattet, eine grössere Zahl von Deckgläsern zu gleicher Zeit und länger in der Farblösung erwärmen oder kochen zu können (Figur 84 und 85).

Der Apparat (Fig. 84) besteht aus einem Reagensglas und einem in dasselbe einzusetzenden Träger für die Deckplättchen. Letzterer wird gebildet durch einen ca. 17 cm langen starken Messingdraht, welcher an seinem unteren Ende zu einer parallelzinkigen Gabel, a, von ca. 8 mm Weite aufgebogen ist, welche an ihrem Ende ein Messingklötzchen, b, trägt, welches mit Einschnitten zur Aufnahme der Deckgläser G versehen ist. Die Befestigung der Deckgläschen geschieht durch einen kleinen, an den Zinken der Gabel a auf- und abgleitenden Querbalken, c. Von ihm aufwärts führt ein dünner, aber steifer Messingdraht, d, welcher oben spiralig um den Hauptdraht gewickelt ist. Diese Spirale gestattet ein leichtes und bequemes Auf- und Abschieben des Querbalkens, während sie andererseits doch soviel Reibung bietet, dass eine spontane Verschiebung verhindert wird. 2 seitliche Arme, e, umfassen

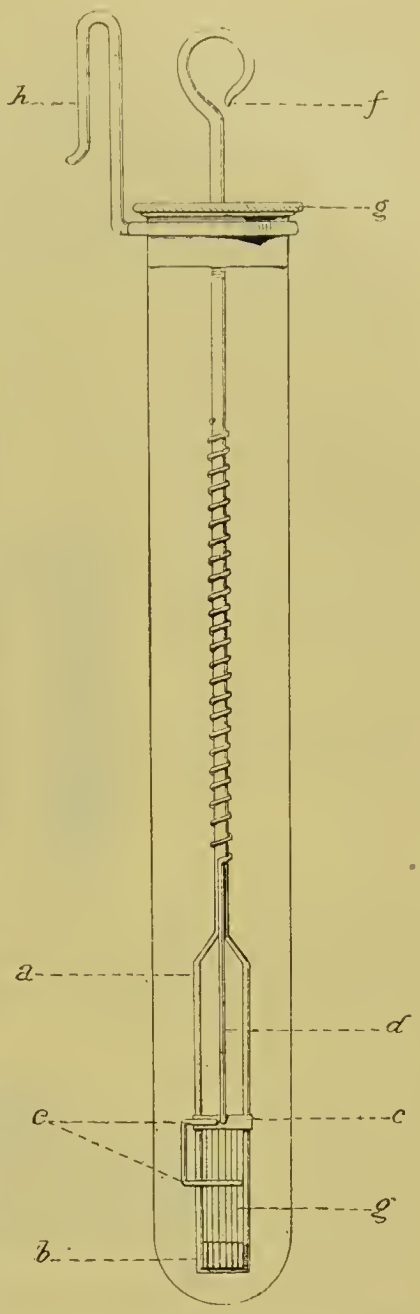

Fig. 85.
Hofmeister's Apparat zur Massenfärbung von Deckglastrockenpräparaten.

[1]) Fortschritte der Medicin 1892. Bd. 10, No. 14.

die Deckgläser von den Seitenrändern her und verhindern so das Herausgleiten derselben. Auf diese Weise sind die Präparate von allen Seiten her festgehalten. Den Dimensionen des Apparats sind Deckgläser von 18 mm Seite, als die am meisten gebrauchten zu Grunde gelegt; für solche von 15 mm ist derselbe jedoch ohne Weiteres auch zu benützen; grössere als 18 mm sind nicht verwendbar, kommen aber auch für Trockenpräparate kaum in Betracht.

An seinem oberen Ende ist der Träger zu einem Haken, f, umgebogen, um ihn nach Färbung und Auswaschung der Präparate an einem Stativ so lange

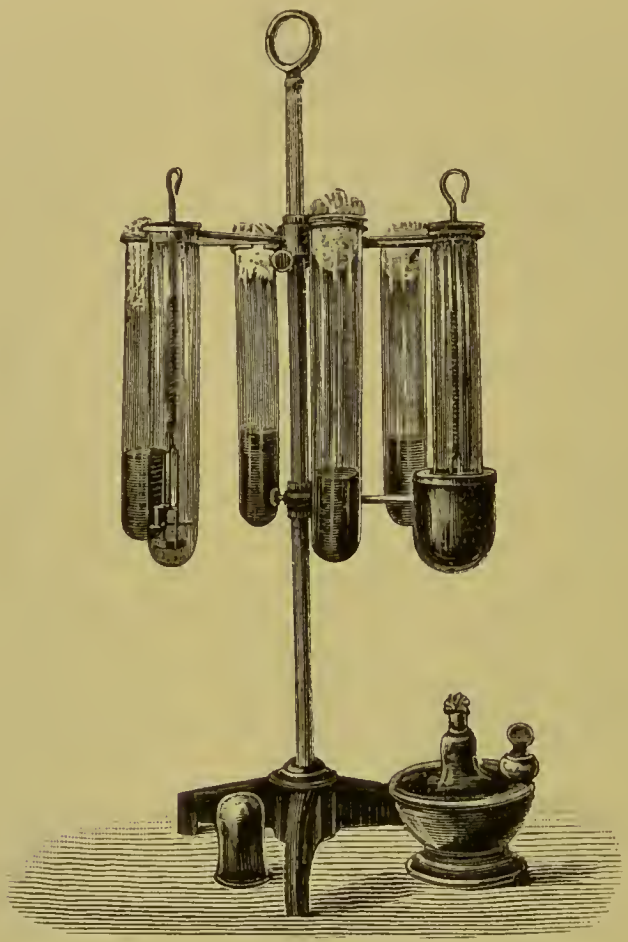

Fig. 86.

Hofmeister's Apparat zur Massenfärbung von Deckglastrockenpräparaten.

aufhängen zu können, bis die einzelnen Deckgläschen der Reihe nach herausgenommen und auf den Objektträger gebracht sind. 3 cm unterhalb des Hakens findet sich der Deckel, g, welcher der ganzen Vorrichtung den nöthigen Halt im Reagensglas verleiht. Derselbe ist durchlöchert, um beim Erhitzen der Farbflüssigkeit die Dämpfe abströmen zu lassen.

16. Kapitel.

Untersuchung des Darms.

Die Präparate müssen möglichst frisch untersucht und conservirt werden. Die Schleimhaut des Magens und Darms wird durch Abspülen mit physiologischer Kochsalzlösung von dem anhaftenden Inhalt befreit. Bei frisch getödteten Thieren wählt man Stellen ohne Inhalt oder lässt diesen durch die Contraktionen der Darmmuskulatur austreiben.

Zur Conservirung wird der Inhalt vollkommen entfernt, indem man ein Darmstück mit Alkohol oder Sublimat oder Pikrinsäure oder Formol wiederholt ausspült, dann unterbindet und, mit einer dieser Flüssigkeiten gefüllt, hängend in einer solchen conservirt. Stehen nur kleine Darmstücke zur Verfügung, werden sie auf fester Unterlage mit Igelstacheln befestigt und in obiger Weise oder in Flemming'scher Fixirflüssigkeit conservirt.

Müller'sche Flüssigkeit eignet sich nur für frische Präparate als Härtungsflüssigkeit.

Celloidin- oder Paraffineinbettung, Färbung mit Hämatoxylin und Nachfärbung in Karmin oder Eosin, Färbung mit Safranin für Karyokinesen, Färbung mit Biondi-Ehrlich'scher Flüssigkeit. Kanada.

Magen- und Darminhalt.

Wenn nöthig, wird der Magen- und Darminhalt zur frischen Untersuchung verdünnt, indem man kleine Partikelchen etwa eine Platinöse davon in Wasser oder Kochsalzlösung auf dem Objektträger vertheilt.

Geschwulsttheile sind am besten in den etwa vorhandenen Blutgerinnseln zu finden.

Zur Untersuchung auf Parasiten, Nematoden und Bandwürmer wird der Darminhalt in einem hohen Glase stark mit Wasser verdünnt und nach wiederholtem Sedimentiren und Verdünnen das Sediment untersucht.

Zur Untersuchung auf Bakterien dienen Deckglas-Trockenpräparate. Für den Nachweis von Cholerabacillen benutzt man mehr den Dünndarm und diejenigen Partien mit weniger galligen, sondern mehr reiswasserähnlichem Inhalt. Am reichlichsten finden sich die Kommas in den grossen Schleimflocken, oft in Schaaren hintereinander. Man unterlasse nicht, sogenannte Vorkulturen zugleich anzulegen, indem man Darminhalt mit der gleichen Menge durch 1 % Soda alkalisch gemachter Bouillon verdünnt und offen bei 22° stehen lässt. Die Cholerabakterien entwickeln sich sehr reichlich an der Oberfläche (Schottelius). Zuverlässiger sind Vorkulturen in Reagensröhrchen mit reinem Peptonwasser, in welchem eine Flocke bis zwei Platinösen der Dejectionen vertheilt werden (Dunbar). Die Reagensröhrchen werden bei Körpertemperatur im Brutschrank gehalten.

Färbung der Deckglas-Trockenpräparate mit verdünntem Carbolfuchsin. Siehe S. 232.

Von pflanzlichen Organismen finden sich Hefezellen, die sich in Jodjodkaliumlösung mahagonibraun färben, von Fadenpilzen werden Penicillium, Mucor etc. gelegentlich angetroffen, bei Kindern mit Soor in der Mundhöhle, Soorpilze.

Von Spaltpilzen finden sich solche, die sich durch Lugol'sche Lösung nur gelb oder braun, und andere, die sich violett oder blau färben. Zu den ersteren gehören verschiedene Mikrokokken, Bakterium termo (die Proteusarten Hauser's), Bacillus subtilis, Bakterium coli commune.

Zu den mit Lugol'scher Lösung sich braun färbenden Organismen gehören die Sarcina ventriculi, zu den blau oder violett sich färbenden Organismen gehören Clostridium butyricum, Mikrokokken, feine Stäbchen, die an die Bacillen der Mäuseseptikämie erinnern, Formen ähnlich der Leptotrix buccalis, Organismen ähnlich dem Bacillus subtilis.

Von pathogenen Organismen ist ausser dem Bakterium coli der Typhusbacillus, der Kommabacillus der Cholera asiatica, der Bacillus Finkler Prior, Tuberkelbacillus, Anthraxbacillus, Streptokokken und Staphylokokken zu erwähnen.

Von Protozoen finden sich Monaden, Amöben (bei chronischer Enteritis und Dysenterie), Coccidien; von Infusorien Cercomonas intestinalis, Trichomonas intestinalis, Balantidium coli, Megastoma entericum (bei Diarrhoeen).

17. Kapitel.

Untersuchung von Leber und Pankreas.

Untersuchung der frischen Leber in Abstrichpräparaten oder in dünnen Schnitten. Härtung in Müller'scher Flüssigkeit mit Nachhärtung in Alkohol; Härtung in Alkohol, Formol oder Sublimat, in Flemming's Chromosmiumessigsäure für Karyokinesen und den Nachweis von Fett, oder für letzteres: Behandlung mit Osmiumsäure 24 Stunden lang event. nach vorausgegangener Härtung in Müller'scher Flüssigkeit.

Färbung mit Hämatoxylin oder Saffranin, Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin oder Karmin. Einbettung in Celloidin oder Paraffin.

Geschwülste werden in der gleichen Weise behandelt. Bei weichen Tumoren ist Alkohol- oder Formolhärtung vorzuziehen.

Darstellung der Gallencapillaren. Die Injektion der Gallencapillaren stösst bei nicht ganz frischen Präparaten auf Schwierigkeiten. Am besten gelingt sie mit wässrigem Berlinerblau.

Darstellung der Gallencapillaren nach Böhm. Das Verfahren ist das von Golgi für das Nervensystem gebrauchte:

1. Härtung 1ccm grosses Leberstückchen 70 Stunden und darüber in einer Mischung von
   3procentiger Kaliumbichromikumlösung . . . 4 Vol.,
   1procentiger Osmiumsäure . . . . . 1 „
2. Uebertragen von 24—48 Stunden in eine 0,75procentige Lösung von Argentum nitric.
3. Auswaschen in destill. Wasser.
4. Nachhärten, Schneiden.

Die Gallencapillaren erscheinen schwarzbraun auf gelbem Grund.

Darstellung des Faserwerks der Leber nach Böhm.

1. Härtung 1 ccm grosser Leberstückchen in $^1/_2$procentiger Chromsäurelösung 48 Stunden lang.
2. Uebertragen in 0,75procentige Lösung von Argentum nitric. 72 Stunden lang.
3. Auswaschen in destill. Wasser einige Stunden.
4. Nachhärtung in Alkohol, Celloidin, Schneiden.

Die Fasern erscheinen schwarz.

Verfahren von Oppel.

Darstellung des Faserwerks an Alkoholpräparaten.

1. Einlegen der in Alkohol gehärteten Stückchen in eine wässrige 10procentige Lösung von Kalium chromicum flavum 24 Stunden lang.
2. Uebertragen in eine 0,75procentige Lösung von Argentum nitricum. Das Volumen dieser Lösung muss das 20—30fache des Stückes sein.
3. Wiederholtes Erneuern dieser Flüssigkeit nach 1 und nach 2—3 Stunden.
4. Nach 24 Stunden Abspülen in destill. Wasser.
5. Alkohol, Celloidin, Schneiden.

18. Kapitel.

Untersuchung der Milz, Lymphdrüsen, Schilddrüse, Carotisdrüse, Nebennieren.

Zur Untersuchung der frischen Milzpulpa dienen frische wie trocken fixirte Präparate des Parenchymsaftes. Derselbe lässt sich mit einem starken Troicart, den man in der Milzgegend durch die Haut einsticht, leicht gewinnen. Färbung in Hämatoxylin, Saffranin.

Für die Untersuchung von Schnitten werden in Müller'scher oder Zenker'scher Flüssigkeit conservirte, in Alkohol nachgehärtete, einfach in Alkohol, Formol, in Sublimat, Pikrinsäure, mit Flemming's Chromosmiumessigsäuregemisch fixirte Stücke verwendet.

Zur Herstellung der adenoiden Gerüstsubstanz werden gefärbte Schnitte des gehärteten Organs in Wasser ausgepinselt und geschüttelt.

Durch Verdauen der Schnitte mit Trypsin wird das retikuläre (nicht leimgebende) Gerüst ebenfalls isolirt erhalten.

Moll schüttelt, um das retikuläre Gerüst isolirt zu erhalten, in Pankreatin verdaute Schnitte ins Wasser, breitet sie auf dem Objektträger aus und lässt sie antrocknen. Hierauf wird das Präparat mit folgender Lösung: Pikrinsäure 10 gr, Alkohol absol. 150 ccm, Wasser 300 ccm befeuchtet. Man lässt nun wieder antrocknen und giebt auf den Schnitt einige Tropfen Säurefuchsin (Säurefuchsin 10 gr, absol. Alkohol 33 ccm, Wasser 66 ccm), welche man $^1/_2$ Stunde stehen lässt. Man giesst das überschüssige Fuchsin ab, bringt den Objektträger in die Pikrinsäurelösung und dann in Alkohol; Xylol, Kanada.

Lymphdrüsen, Carotisdrüse und Nebennieren werden ebenso wie die Milz behandelt.

19. Kapitel.

Untersuchung der serösen Membranen.

Zum Nachweise des Endothelbelags dient $^1/_2$procentige Lösung von salpetersaurem Silber, worin die gut ausgespannten Membranen kurze Zeit bleiben bis sie beginnen, sich zu trüben. Hierauf werden sie in eine grössere Menge destill. Wasser übertragen und dann dem Lichte ausgesetzt, bis sie braun werden. Wünscht man tiefere Wirkung des Silbersalpeters zur Darstellung von Blut- und Lymphgefässen, ist der Aufenthalt in obiger Lösung zu verlängern. Färbung mit Hämatoxylin, Einschluss in Glycerin oder Kanada.

Silbernitrat kann auch in $^1/_2$procentiger Osmiumsäure oder in 2- bis 3procentiger Salpetersäure gelöst werden. Dauer der Einwirkung $^1/_4$ Stunde. Abwaschen mit destillirtem Wasser $^1/_2$ Stunde, Alkohol von 70% Hämatoxylin, Kanada.

Für Härtung seröser Membranen Einlegen in Müller'sche Flüssigkeit und in Flemming's Chromosmiumessiggemisch. Nachhärtung in Alkohol. Für Untersuchung auf Spaltpilze Conservirung in Alkohol.

Exsudate.

Fett findet sich in den Exsudaten nicht selten in grösserer Menge und bedingt dann ein opalescirendes oder milchiges Verhalten derselben. Das Fett ist zuweilen, wie im Chylus, im kleinsten, unregelmässig gestalteten, mattglänzenden Körnchen und in innigster Verbindung mit Eiweis-

körpern in der Flüssigkeit enthalten, so dass man ohne Weiteres das Fett nicht als solches erkennt; erst bei Zusatz von Essigsäure oder Alkalien werden die Albuminate gelöst, und das Fett fliesst dann zu grösseren, hell glänzenden Tröpfchen zusammen. Dieser sogenannte Hydrops chylosus scheint stets nur bei Erguss von Chylus[1]) in die Bauch- resp. Brusthöhle vorzukommen, entweder in Folge von Traumen oder von Stauung des Chylus in den Mesenterialgefässen resp. im Ductus thoracicus. In anderen Fällen rührt das Fett von zerfallenen Fettkörnchenkugeln her und ist von vorn herein in kleinen glänzenden Körnchen als solches charakterisirt (Hydrops adiposus); dies kommt bei chronischer Entzündung, sowie Carcinosis der serösen Häute zur Beobachtung.

Es kommen übrigens auch seröse Ergüsse vor, welche lediglich durch albuminöse Körnchen eine opalescirende oder milchige Trübung zeigen.

Rothe Blutkörperchen sind in verschieden grosser Menge zu finden; oft auch in verändertem Zustande, entfärbt, geschrumpft etc.

Lymphoide Zellen fehlen fast nie, nur sind sie in einfachen Transsudaten weit weniger zahlreich, als in entzündlichen Exsudaten. Oft kann man an ihnen lebhafte, amöboide Bewegungen beobachten; in vielen Fällen allerdings sind sie bereits abgestorben, oft enthalten sie auch reichliche Fettkörnchen.

Endothelzellen sind in den Ergüssen der serösen Höhlen theils einzeln, theils in zusammenhängenden Platten zu finden, ebenfalls oft fetthaltig, oft auch zu kugelförmigen Körpern umgewandelt; sie sind mit einem oder mehreren Kernen versehen, zuweilen enthalten sie auch Vakuolen.

Epithelzellen kommen im Cysteninhalt vor, von cylindrischer polygonaler oder platter Form; sie geben oft Anhaltspunkte zur Diagnose des Ausgangsortes der Cyste. Auch Flimmerzellen finden sich zuweilen besonders in einkammerigen Ovarialcysten etc.

Tumorelemente, die den Exsudaten beigemengt sind, fallen meist rasch zu Boden; und zwar geschieht dies schon innerhalb des Organismus, so dass sie bei hoch oben angelegten Punktionen vollständig vermisst werden können, während sie in den tieferen Partien in Masse vorhanden sind.

Es handelt sich meist um Karcinome; die Zellen derselben charakterisiren sich durch ihre sehr ungleiche, oft sehr erhebliche Grösse, ihre grossen Kerne und die oft ganz polymorphen Formen; Vakuolen finden sich ebenfalls sehr häufig. Indessen ist es für gewöhnlich nicht gerathen, auf Grund des Befundes von einzelnen Zellen auf Krebs zu diagnosticiren: besonders der Anfänger thut besser, die Diagnose so lange in suspenso zu

---

[1]) Vgl. Quincke. Ueber fetthaltige Transsudate. Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 16.

lassen, bis man die Zellen in Haufen, Ballen zusammengelagert antrifft. Quincke[1]) giebt an, dass die Glykogenreaktion wahrscheinlich zur Diagnose verwerthet werden kann; dieselbe tritt bei Krebszellen oft ein, während die Endothelzellen für gewöhnlich kein Glykogen zu enthalten scheinen.

Bei den die akute Pneunomie begleitenden Pleuritiden und Pericarditiden findet sich sehr oft eine massenhafte Entwickelung der kapseltragenden Pneumonie-Organismen, am häufigsten des Diplokokkus pneumoniae. Auch Streptokokken kommen vor.

Der Diplokokkus pneumoniae ist auch bei Endometritis, Peritonitis und Meningitis beobachtet worden (Weichselbaum).

Von thierischen Parasiten kommen hauptsächlich die Echinokokken in Betracht; als sichere, mikroskopische Kriterien sind die Chitinhaken und die geschichteten Membranen zu benutzen. Oft findet man schon makroskopisch bei genauer Betrachtung des Bodensatzes die einzelnen Skolices, resp. Gruppen von solchen als weissliche Pünktchen.

20. Kapitel.

Untersuchung der Harnorgane und des Harns.

Die Conservirung der Niere wird in derselben Weise wie die der Leber vorgenommen. Möglichste Frische des Präparats ist auch hier unerlässliche Bedingung. Einbetten in Celloidin oder Paraffin, Färbung mit Hämatoxylin und Karmin oder Eosin.

Für die Untersuchung des Harns[2]) lässt man denselben sedimentiren. Da leicht beim längeren Stehen in den Harn Organismen gelangen und die darin befindlichen morphotischen Theile sich verändern, ist es besser, den Harn zu centrifugiren. Mit der Pipette oder Platinöse wird ein kleines Tröpfchen des Sediments auf den Objektträger gebracht eventuell mit einer physiologischen Kochsalzlösung verdünnt und unter Deckglas untersucht.

Harn.

Von geformten Bestandtheilen des Harns (Harnsedimenten) unterscheiden wir nicht organisirte und organisirte.

Krystalle. Die in der Körpertemperatur de norma in Lösung gehaltenen, harnsauren Salze, hauptsächlich harnsaures Natron, fallen

[1]) Quincke, Ueber Ascites. Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 30.
[2]) Für feinere insbesonders bakteriologische Untersuchungen wird der Harn in sterilisirten Gefässen aufgefangen.

beim Erkalten des Urins, wenn sie in etwas grösserer Menge vorhanden sind, in Form von feinen, oft etwas unregelmässig gestalteten Körnchen nieder. Die harnsauren Salze lösen sich schon bei leichter Erwärmung; ebenso bei Zusatz von Säuren, wobei sich Harnsäure in charakteristischen, meist prismatisch geformten, oft bräunlich gefärbten Krystallen abscheidet.

Bei fieberhaften Zuständen, bei der Gicht etc. ist das harnsaure Natron gewöhnlich stark vermehrt; oft findet die Abscheidung der Harnsäure in dem Urin einige Zeit nach der Entleerung spontan statt, d. h. ohne dass Säuren zugesetzt worden sind. Man bezeichnete das früher als „saure Harngährung", aber mit Unrecht; es handelt sich nur darum, dass das saure, phosphorsaure Natron unter Zerlegung des harnsauren Natrons in basisch-phosphorsaures Natron übergeht, wobei die Harnsäure frei wird. Eine eigentliche saure Harngährung, mit Zunahme der sauren Reaktion des Urins, kommt nur bei Diabetes zu Stande (Voit und Hofmann).

Zu gleicher Zeit mit den Harnsäure-Krystallen findet oft auch eine Abscheidung von oxalsaurem Kalk in Form kleiner, glänzender Octaëder statt, die von oben gesehen wie „Briefcouverts" erscheinen. Bei abnorm reichlichem Gehalt des Urins an Oxalaten spricht man von „Oxalurie"; bekanntlich bildet der oxalsaure Kalk den Hauptbestandtheil einer wichtigen Klasse von Harnsteinen.

In dem aus dem Körper entleerten Urin kommt regelmässig die alkalische resp. ammoniakalische Harngährung zu Stande, d. i. eine Umsetzung des Harnstoffs in kohlensaures Ammoniak, welche bedingt wird durch ein von Musculus isolirtes ungeformtes Ferment. Dieses Ferment wird aber seinerseits stets von Spaltpilzen erzeugt. Gelangen die Organismen, Mikrokokken, Stäbchen, besonders Proteus, sive Urobacillus liquefaciens septikus und Bakterium coli, resp. deren Keime zu dem in der Blase befindlichen Urin, was u. A. durch den Katheterismus geschehen kann, so kann die alkalische Harngährung, besonders wenn der Urin in der Blase stagnirt, also bei Lähmungen der Blase, schon innerhalb der Blase eintreten.

Bei alkalischen Harngährung findet eine starke Trübung des Urins statt, die (abgesehen von den Schizomyceten) gebildet wird durch:

1. Phosphorsaure Ammoniakmagnesia (Tripelphosphat) in der bekannten Form der Sargdeckelkrystalle, in Säuren sofort löslich.
2. Harnsaures Ammoniak, in Form von „Morgensternen", Kugeln die mit feinen Spitzen besetzt sind.
3. Phosphorsauren Kalk, der einen amorphen Niederschlag bildet.
4. Harnsäure in Krystallen von Wetzsteinform, rhombischen Tafeln oder spitzen Nadeln.
5. Harnsaures Natron, ein ziegelrothes amorphes Sediment bildend.

Unter pathologischen Verhältnissen finden wir nun ausser den schon genannten Substanzen, die zuweilen in enormer Menge vorkommen („Harngries") noch verschiedene andere, krystallinische und körnige Niederschläge.

6. Cystin in sechsseitigen, regelmässigen Tafeln (Cystinurie);
7. Xanthin und verwandte Körper;
8. Tyrosin in Form von garbenartig zusammenliegenden Nadeln, meist gelblich gefärbt, besonders bei acuter, gelber Leberatrophie;
9. Gyps, phosphorsauren und kohlensauren Kalk.

Alle diese Niederschläge sind durch einfache microchemische Reaktionen meist sehr leicht zu bestimmen. Die chemischen Handbücher müssen dabei zu Rathe gezogen werden.

Organisirte Harnsedimente. Epithelien. Vereinzelte Epithelien, theils platte, theils aufgequollene und auch keulenförmige Zellen finden sich schon im normalen Harn, besonders bei Frauen. Zahlreicher sind sie bei acuten und chronischen Katarrhen der Harnröhre und der Blase.

Mehr cylindrische Zellen stammen von der Harnröhre oder Prostata.

Das Auftreten von Epithelien der Nierenkanälchen ist ein Zeichen von schwächerer oder stärkerer Epitheldegeneration. Diese Zellen erscheinen theils als vereinzelte kleine, polygonale oder rundliche Gebilde, theils zu cylindrischen Strängen vereint, „Epithelschläuche, Epithelcylinder" bei schwerer acuter Nephritis. Die einzelnen Zellen sind dann getrübt, bald durch Eiweisspartikelchen, und lösen sich dann in Essigsäure, bald rührt die Trübung von feinkörnigen, durch Entartung entstandenen Fetttröpfchen her, die sich weder in Kali noch in Essigsäure, aber in Alkohol-Aether lösen.

Leukocyten kommen im normalen Harn nur vereinzelt vor. In grösserer Menge finden sie sich bei Entzündung der Blase, der Ureteren und des Nierenbeckens, zu Cylindern angeordnet, bei Eiterungen in der Niere.

Harncylinder. Wir unterscheiden unorganisirte und organisirte.

Erstere bestehen aus harnsauren Salzen (bei Kindern in den ersten Lebenstagen, Arthritikern, im Stauungsharn).

Die organisirten Cylinder bestehen:

1. aus zelligen Elementen, Epithelzellen, rothen und farblosen Blutkörpern, Bakterien;
2. aus veränderten Zellen;
3. aus den hyalinen Cylindern.

Die Cylinder der ersteren Gruppe zeigen immer eine schwerere Erkrankung der Niere an.

Die Cylinder der zweiten Gruppe „granulirte Cylinder" verdanken ihre Entstehung dem Zerfall von Epithel, Blut (Nephritis, cyanotische Induration, Intoxikation. [Fetttröpfchen-Cylinder]).

Die hyalinen Cylinder kommen auch im eiweissfreien Harn normaler Menschen, wie z. B. nach Alkoholgenuss vor (Glaser). Für eine schwere Erkrankung sprechen sie, wenn sie in Verbindung mit Epithel- oder anderen Cylindern vorkommen. Ob sie ihre Entstehung der Gerinnung eines eiweisshaltigen Transsudates verdanken (Transsudatcylinder) oder hyalinen Ausscheidungen der Nierenepithelien oder einem Zerfall dieser (Exsudations- und Zerfallscylinder), ob hierbei eine Umwandlung des Eiweisses in eine fibrinähnliche Substanz stattfindet (sekretorisches und exsudatives Fibrin) ist fraglich.

Das homogene Transsudat in den Haarkanälchen kann wohl mitunter echtes Fibrin enthalten, und nur auf dieses würde die Bezeichnung „Fibrincylinder" Anwendung finden.

Durch sehr dünne Jodlösung, wie durch Karmin und Anilinfarben, welche man vom Rande des Deckglases zufliessen lässt, werden die oft sehr zarten Cylinders gefärbt. Für den Nachweis des Fibrins dient die Weigert'sche Fibrinreaktion.

Die wachsartigen Cylinder sind breiter, schärfer conturirt und stärker lichtbrechend als die hyalinen und finden sich mehr bei chronischen Entzündungen. Die hyalinen erblassen bei Zusatz von Säuren mehr und mehr, die obengenannten nicht. In Lugol'scher Lösung, wie in Methylviolett, nehmen die ersteren manchmal die Amyloidreaktion an (Amyloidniere).

Pseudomembranöse mucinartige und aus Fibrin bestehende Massen werden bei manchen schweren entzündlichen Processen der ableitenden Harnwege gefunden[1])

Neubildungen. Um die Diagnose auf Krebs zu stellen, genügt das Vorkommen vereinzelter Epithelzellen nicht. Vielgestaltige Epithelien aus den ableitenden Harnwegen finden sich in geringer Zahl fast immer. Erst das Vorkommen grösserer Zellenverbände, insbesondere auch mit Gerüstbildung, berechtigen bei Abwesenheit entzündlicher Processe zur Diagnose einer Neubildung.

Mikroorganismen. Die gänzliche Abwesenheit von Keimen im Blasenharn ist noch nicht sichergestellt. Der durch die Urethra entleerte Harn enthält Keime, die wohl zum grössten Theil aus der Harnröhre stammen. Am constantesten sind vier unter sich verwandte Diplokokken (Hofmeister).[2]) Seltener findet sich Staphylokokkus, eine Stäbchenform und noch verschiedene Organismen. Dass deren Zahl wie die Arten wechseln, ist leicht begreiflich.

Im ammoniakalischen Harn findet sich ausser Kokken, Streptokokken besonders der Bacillus uroseptikus liquefaciens — eine Proteusform —

[1]) v. Jaksch, Zeitschrift f. klinische Medicin. 1893, Bd. XXII.
[2]) Fortschritte der Medicin 1894, No. 15 u. 16.

welche insbesondere Ursache der ammoniakalischen Gährung des Harns ist und wohl öfter durch Catheter ihren Weg in die Blase findet. In geringerem Grade zersetzt Bakterium coli. Selten fand sich Sarcine im Harn. Hefezellen kommen besonders im diabetischen Harn vor.

Von pathogenen Organismen kommen im Harn vor: der Staphylokokkus pyog. aureus, Streptokokkus, das Bakterium coli, der Proteus, bei Eiterungen in der Niere und den Nierenbecken, der Blase, der Gonokokkus in der Harnröhre, Tuberkelbacillen, Typhusbacillen, Recurrensspirillen (Gräber) und Aktinomyces. Im Frauenharn sind Smegmabacillen reichlich.

Thierische Parasiten. Kleine Infusorien (Cercomonaden und Amöben) wurden wiederholt im Harn gefunden. (Vgl. Posner, Berl. klin. Wochenschr. 1893, Nr. 28.)

In den Tropen finden sich daselbst die Eier von Distoma hämatobium, in einigen Fällen wurde Filaria sanguinis hominis in dem mit Blut und Eiter getrübten Harn ausgeschieden (bei tropischer Hämaturie). Auch Haken und Echinokokkuscysten wurden im Harn nachgewiesen.

---

21. Kapitel.

Geschlechtsorgane.

Weibliche Geschlechtsorgane.

Um übersichtliche Schnitte durch Ovarien, Ovarialtumoren zu erhalten, genügt Härtung nicht zu grosser Stücke in Alkohol oder Formol. Ovarien Erwachsener härten bei sorgfältiger Behandlung vollkommen durch; Celloidineinbettung, Färbung in Hämatoxylin und Eosin.

Ausserdem Härtung in Lösungen von Chromsalzen oder in Flemming'scher Lösung mit Nachhärtung in Alkohol.

Kleine Geschwulststücke, Blutcoagula, Eitheile, werden für Schnelldiagnose in wiederholt erneuertem heissem Alkohol, für gewöhnlich in Formol oder Alkohol gehärtet, in Celloidin eingebettet, mikrotomirt und doppelt wie oben gefärbt.

Bei Blutcoagulis aus den weiblichen Genitalien wird die frische Untersuchung nie zu unterlassen sein. Man spült in physiologischer Kochsalzlösung das Blut möglichst ab und untersucht die festeren Theile. Sehr oft kann man an Zupfpräparaten die Chorionzotten nachweisen.

In gleicher Weise wie oben wird auch die Placenta behandelt. Für Untersuchungen auf Mikroorganismen Conservirung in Alkohol, Färbung

in Anilinfarben, für andere Zwecke Härtung in Müller'scher Flüssigkeit, Sublimat, Formol, Nachhärtung in Alkohol, Celloidin, Färbung in Hämatoxylin und Eosin.

Sekrete des Genitalapparates.

a) Vaginalsekret.

In diesem sind mehr oder minder reichliche, grosse, unvollständig verhornte Plattenepithelzellen und Rundzellen vorhanden. Die letzteren sind von verschiedener Grösse, von der Grösse der weissen Blutkörperchen an bis zu vierfach bis fünffach grösseren Formen; die grösseren Rundzellen enthalten meist reichliche Fettkörnchen.

Mikroorganismen kommen in dem Scheidensekret in grosser Zahl vor; Winter[1]) fand 27 verschiedene Spaltpilze, unter denen Staphylokokkus pyog. alb., aureus und citreus wie die Streptokokken in einem abgeschwächten Zustand sich befanden.

Das normale Scheidensekret enthält constant einen Bacillus, welcher die Ursache der Säurebildung ist (Döderlein). Ausserdem findet sich ein Hefepilz. Im pathologischen Scheidensekret sind verschiedene Spaltpilze, darunter Streptokokken, vorhanden. Bei Schwangeren kommen Streptokokken nur etwa in 4 Procent der Fälle vor. Bei Gonorrhoe findet sich der Gonokokkus, bei Tuberkulose der Tuben der Tuberkelbacillus.

Von Schimmelpilzen kommt auf der Vaginalschleimhaut besonders bei Schwangeren der Soorpilz (Oidium albicans) nach Haussmann vor; wenn er sich in grösseren Mengen entwickelt, so bildet er weissliche Plaques und verursacht leichte Entzündung der Schleimhaut; er ist auch mitunter die Ursache des Soors der Neugeborenen.

Ueber die Trippermikrokokken siehe auch unter b) Uterinflüssigkeiten.

Zu den unschädlichen Parasiten gehört jedenfalls der von Donné im Scheidenschleim entdeckte Trichomonas vaginalis, ein mit Geisselfäden und Wimperhaaren versehenes, lebhaft bewegliches Infusorium.

b) Uterinflüssigkeiten.

Mikroorganismen. Dysmenorrhoische Membranen. Decidualfetzen. Curettement. Die Diagnose des Uteruscarcinoms.

Die normale Tuba und das Cavum uteri sind meist frei von Organismen. Das Sekret des Cervix enthält dagegen stets Keime. Die in einzelnen Fällen in der Uterushöhle gefundenen Organismen waren Streptokokken, Staphylokokkus alb. und aureus. Im Cervix fanden sich Bacillen und Kokken. (Winter.)

[1]) Die Mikroorganismen im Genitalkanal der gesunden Frau. Zeitschrift für Geburtshülfe und Gynäkologie, Bd. XIV.

Die aus dem Uterus entnommenen Lochien sind normal keimfrei. Häufiger kommen in ihnen bei fiebernden Wöchnerinnen Keime von Streptokokkus pyogenes vor. Nach Abfall des Fiebers werden die Lochien wieder keimfrei. (Döderlein.)[1])

Gonokokken wurden im Cervix, Cavum uteri und den Tuben beobachtet. In wie weit eitrige Entzündung, in den Bartholin'schen Drüsen dem Uterus und den Tuben auf eine Infection mit Gonokokken oder auf Mischinfectionen mit diesen und anderen Organismen oder letztere allein (Staphylokokken, Streptokokken) zurückzuführen ist, bedarf noch eingehender Untersuchungen.[2]) Die bei eitriger Salpingitis gefundenen Organismen sind oft abgeschwächt.

Als Ursache einer diphtheritischen Endometritis fand Weichselbaum den Diplokokkus der Pneumonie.

Bei jauchiger Endometritis wurde Proteus gefunden (Hauser).

Ausser dem normalen Schleimpfropf des Collum uteri, welcher nur spärliche, lymphoide Zellen enthält, finden wir bei entzündlichen Processen ein oft eiterartiges Sekret der Uterinschleimhaut, in welchem ausser lymphoiden Zellen auch reichliche Cylinderzellen meist ohne Flimmersaum vorkommen.

Die Menstrualflüssigkeit besteht hauptsächlich aus Blut; das Lochialsekret enthält ausserdem reichliche Elemente der Eihautreste, besonders der tiefsten Decidualschicht, welche post partum im Uterus zurückbleibt. Besonders charakteristisch sind die Epithelzellen der untersten Drüsenenden mit ihrem hellen, fast vacuolenartigen Kern.

Waren Theile der Placenta zurückgeblieben, so finden sich in den Lochien oft auch kleinere oder grössere Placentastückchen; die Struktur und Form der baumförmig verästelten Placentazotten (Chorionzotten) ist so charakteristisch, dass man sie stets sofort als solche erkennt. Häufig verkalken solche Placentareste, so dass dann zuweilen selbst feste Concremente aus der Uterushöhle ausgestossen werden.

Bei gewissen Formen von Dysmenorrhoe kommt es bekanntlich zur Ausstossung von Membranen, oft unter wehenartigen Schmerzen. Diese dysmenorrhoischen Membranen oder „Decidua menstrualis" sind Stücke der Uterinschleimhaut; auch die schlauchförmigen Drüsen und ihre Oeffnungen an der Innenfläche sind darin zu constatiren. In ihrer Struktur unterscheidet sie sich von der Decidua graviditatis, d. h. der durch Gravidität veränderten Uterusschleimhaut. Das Interglandulargewebe der

---

[1]) Döderlein, Untersuchungen über das Vorkommen von Spaltpilzen in den Lochien des Uterus und der Vagina gesunder und kranker Wöchnerinnen. Arch. f. Gynäkologie, Bd. 31. 1888.

[2]) Orthmann berichtete über eine Salpingitis purulenta gonorrhoica. Berliner klinische Wochenschrift, 1887. Vergl. E. Finger, Die Blennorrhoe der Sexualorgane und ihre Complicationen. Leipzig u. Wien, 1889.

Uterusschleimhaut besteht nämlich unter allen Umständen wie bei der menstruellen Schwellung, ebenso in den dysmenorrhoischen Membranen bei den verschiedensten Formen der Endometritis, bei der Schwellung der Schleimhaut in Folge von Uterusmyomen etc., stets aus kleinen Rundzellen von der Grösse der Lymphoidzellen, mit sehr wenig Protoplasma. Nur allein die Gravidität bewirkt eine charakteristische Veränderung der Zellen, wir finden schon im ersten Beginn der Schwangerschaft in der geschwollenen Uterusschleimhaut die bekannten grossen, protoplasmareichen Decidualzellen fünf- bis zehnmal grösser als Lymphoidzellen, rundlich oder polygonal, auch mit Fortsätzen versehen. Diese Grösse und Gestalt behalten dann die Zellen der Decidua bis zum Ende der Schwangerschaft; das Gewebe der Decidua ähnelt, wenn man von den Drüsen absieht, manchen Formen von grosszelligen Sarkomen. Auch bei Extrauterinschwangerschaft findet bekanntlich regelmässig eine Schwellung der Uterusschleimhaut statt, oft werden auch Fetzen derselben ausgestossen; auch hier lässt sich stets der charakteristische Bau der Decidua mit den grossen Zellen nachweisen. (Wyder.)[1])

Wir sind demnach mittelst der Untersuchung der aus dem Uterus abgegangenen Membranen in der Lage, mit Bestimmtheit Gravidität zu diagnosticiren resp. auszuschliessen. Moericke[2]) hat dieselben Verhältnisse an Schleimhautstückchen constatirt, die er mit dem scharfen Löffel aus der Uterushöhle entfernte.

Durch Curettement entfernte Wucherungen der Uterusmucosa bei Endometritis hyperplastica werden in wiederholt erneuertem heissen Alkohol rasch gehärtet. In 2—3 Stunden können die Präparate zwischen Klemmleber geschnitten werden.

Bei Krebs des Cervix findet sich eine Wucherung der Uterinschleimhaut, welche mit Unrecht als sarkomatös bezeichnet wurde.

Carcinom oder Erosion, resp. Adenom?

Bei Carcinoma uteri finden sich oft in der von der krebsigen Ulceration abgesonderten Flüssigkeit zellige Elemente oder selbst grössere Bröckel und Fetzen suspendirt, deren Struktur die Diagnose bestätigen hilft. In zweifelhaften Fällen dagegen, wo es sich um die Frage handelt, ob Carcinom oder gutartige Erosion, wird die Untersuchung des Sekretes allein wohl niemals genügen; in solchen Fällen wird dann erst durch die Untersuchung excidirter kleiner Stücke die Diagnose festgestellt werden.

Der Grund einer Erosion besteht aus Granulationsgewebe, welches meist von einem mehrschichtigen Epithel überzogen ist; von diesem Epithel pflegen dann drüsenartige, mit Lumen versehene Einsenkungen in die Tiefe des Granulationsgewebes einzudringen, häufig aber auch solide

[1]) Wyder, Arch. f. Gynäkologie. Bd. 13.
[2]) Moericke Zeitschr. f. Gynäk., Bd. 7.

Epithelstränge, die sich theilen und zu unregelmässigen Netzen mit einander in Verbindung treten.

Diese vollkommen krebsähnliche Struktur kommt bei ganz einfachen, gutartigen Erosionen vor. Ein unvorsichtiger Beurtheiler, der hieraus ohne Weiteres einen Krebs diagnosticirt, kann damit leicht viel Unglück anrichten; er wird verstümmelnde und gefährliche Operationen in Fällen vornehmen, in denen eine Radikalexstirpation nicht indicirt ist. Es muss also noch ein anderes Moment hinzukommen, ehe man die folgenschwere Diagnose auf Krebs zu stellen hat. Die in das Granulationsgewebe sekundär eindringende Epithelwucherung[1]), die oft genug vollkommen atypisch wird, ist aber nicht auf die Erosionen des Uterus beschränkt, sondern kommt sehr häufig an den verschiedensten Orten zu Stande (Haut, Leber, Lunge etc.); sie kann überall da sich entwickeln, wo Granulationsgewebe mit epithelialen Flächen in direkte Beziehung tritt. Die atypische Epithelwucherung ändert an dem Charakter der ursprünglichen Affektion, welche zur Bildung des Granulationsgewebes geführt hat, gar nichts; sie ist ein vollständig gutartiger, unschädlicher Vorgang und würde uns vom praktischen Standpunkte aus nur wenig interessiren, wenn nicht gerade die Struktur der Krebse, besonders im Anfang, die vollständigste Aehnlichkeit mit den gutartigen, atypischen Epithelwucherungen hätte.

Man hat ja sogar den Krebs von histologischer Seite als „atypische Epithelwucherung“ definirt (Waldeyer). Diese Definition reicht indessen nicht aus; wir müssen als nothwendigste, wichtigste Eigenschaft des Krebses hinzufügen: „von bösartigem Charakter“; wir verlassen damit das rein histologische Gebiet, denn weder an der Zelle, noch an dem Gewebe ist der „bösartige Charakter“ direkt zu erkennen. Trotzdem dient zum Nachweis der Bösartigkeit wiederum die mikroskopische Untersuchung: denn die Bösartigkeit des Processes ist dann erwiesen, wenn dieser schrankenlos durch verschiedene Gewebe zerstörend hindurchwuchert, während eine gutartige Neubildung auf das Gewebe, von dem sie ausgegangen ist, beschränkt bleibt und die Nachbarschaft entweder ganz unberührt lässt oder doch lediglich verdrängend wirkt.

Finden wir z. B. am Uterus den Process nicht auf die Schleimhaut beschränkt, sondern auch in der Muskulatur, sehen wir diese theilweise ersetzt durch ein von atypischen Epithelsträngen durchzogenes Granulationsgewebe,[2]) dann haben wir eine evidente Malignität vor uns, und dann erst diagnosticiren wir mit Sicherheit auf Krebs.

Die zur histologischen Untersuchung exstirpirten Stückchen müssen

---

[1]) Vergl. C. Friedländer, Ueber Epithelwucherung und Krebs. Strassburg 1877.

[2]) Das Stroma in jungen Krebsgewächsen ist ja gewöhnlich Granulationsgewebe.

also mindestens einen Theil der Muscularis mit enthalten; ohne die Erkrankung in der Muscularis nachgewiesen zu haben, können wir in den meisten Fällen die Krebsdiagnose nicht sicher motiviren.

Ruge giebt an, dass die Epithelzellenstränge beim Krebs solide, bei einfachen Erosionen dagegen mit Lumen versehen seien, und das ist sicher für viele Fälle richtig. Dieser Unterschied gilt jedoch nicht ausnahmslos und kann darum nicht zur Diagnose verwendet werden; denn einerseits haben in vielen Fällen von echtem, bösartigem Krebs die Zellenstränge das schönste, regelmässige Lumen, andererseits kommen bei gutartigen Erosionen sehr häufig solide Epithelzapfen zur Beobachtung, wie man besonders durch Leichenuntersuchungen leicht nachweisen kann.

Dieselben Grundsätze der Beurtheilung sind auch bei allen anderen Organen zu befolgen; so lange wir atypische Epithelneubildungen an Orten vorfinden, wo von vornherein schon Epithel vorhanden ist, also in der Cutis, den Schleimhäuten, allen echten Drüsen etc. werden wir stets noch den besonderen Nachweis der Bösartigkeit zu führen haben, ehe wir die Diagnose auf Krebs stellen. Finden wir indessen die atypischen Epithelstränge anderwärts, z. B. in der Muskulatur[1]), im Knochen, in Lymphdrüsen, so ist dadurch eo ipso direkt der fressende resp. der metastasirende Charakter der Affektion gegeben, und wir diagnosticiren nothwendig auf Krebs.

Manche Autoren benutzten den Terminus Epitheliom synonym mit Krebs. Es ist aber jedenfalls richtiger, den Ausdruck „Epitheliom“ als allgemeinen Begriff für epitheliale Tumoren aller Art festzuhalten und für die bösartigen unter ihnen dann den Ausdruck „Krebs“ zu gebrauchen. Den Ausdruck „Adenom“ wendet man am besten lediglich für gutartige Wucherungen an.

Das Vorhandensein einer unmittelbaren Gefahr wird man im Stande sein auszuschliessen, wenn die oben aus einander gesetzten Kriterien der Malignität fehlen. Dass zuweilen aus einer ursprünglich gutartigen Neubildung, einem Adenom des Cervix z. B., späterhin ein Krebs entstehen kann, ist natürlich nicht unmöglich, indessen liegt eine bestimmte Gefahr nur dann vor, wenn der bösartige Charakter der Affektion nachgewiesen ist.

Die Diagnose kann unter Umständen schwierig werden, wenn zu einem an sich destruktiven Process, z. B. zu einer syphilitischen oder tuberkulösen Ulceration sekundär eine atypische Epithelwucherung sich gesellt; in solchen Fällen ist besondere Vorsicht geboten, am besten wartet man zunächst den Effekt einer energischen, lokalen Therapie ab.

Milch.

Die Milch der Schwangeren oder von Frauen, welche geboren haben, enthält Fettkörnchen und rundliche Zellen mit Fettkügelchen (Epithelien) sog. Kolostrumkörper.

[1]) In teratoiden Neubildungen können epitheliale Züge auch mitten in anderen Geweben gefunden werden, ohne dass damit ein bösartiger Charakter derselben gegeben wäre. In Myomen des Uterus sind in seltenen Fällen Cysten, die mit Flimmerepithel ausgekleidet waren, gesehen worden. (Babesiu, Diesterweg, Hauser.)

In der reifen Milch mehrere Tage (4) nach der Geburt finden sich nur gleichmässig vertheilte Fettkörnchen.

Organismen der Milch.

Staphylokokken, insbesondere der Staphylokokkus pyogenes alb., weniger oft der Staphylokokkus pyog. aur. kommen nach Honigmann und Ringel[1]) fast immer in der Frauenmilch vor, wenn auch meist im abgeschwächten Zustande.

Bei Mastitis enthält die Milch Streptokokken und virulente Staphylokokken. Erstere sind höchst wahrscheinlich durch Metastasen von den erkrankten Geschlechtsorganen in die Brustdrüse gelangt.

Männliche Geschlechtsorgane.

Die männlichen Geschlechtsorgane werden in derselben Weise wie die weiblichen konservirt.

Sperma und Prostatasekret.

Im Sperma finden sich die höchst charakteristischen, lebhaft beweglichen Spermatozoen; auch an eingetrocknetem Sperma (Samenflecken) sind sie durch Aufweichen in Kochsalzlösung meist noch sehr gut nachzuweisen. Findet man in zweifelhaften Fällen kleine glänzende Körperchen von dem Aussehen der Köpfe von Spermatozoen und andererseits feine Fädchen von dem Aussehen der Schwänze, aber keine zusammenhängenden Spermatozoen, so lasse man sich ja nicht verleiten, aus den gefundenen Bruchstücken einen positiven Schluss zu ziehen. Solche kleine Körperchen resp. Fädchen sind an trockenen Flecken irgend welcher Art leicht darzustellen und können jede beliebige andere Herkunft haben; nur, wenn man vollständige Samenkörper mit Kopf und Schwanz in continuo nachweisen kann, ist der Samenfleck als solcher sicher erkannt.

Vermisst man in dem Samen die Spermatozoen, so ist zu beachten, dass die temporäre von der bleibenden Azoospermie (Sterilitas masculina) unterschieden werden muss: werden rasch hinter einander mehrere Ejakulationen provocirt, so ist die Flüssigkeit zuletzt ganz frei von Spermatozoen. Das Hodensekret ist dann temporär erschöpft, die ejakulirte Flüssigkeit stammt nur aus den Samenblasen, Prostata etc.

Samenflecken.[2])

Das zu untersuchende Material wird zum Aufweichen des angetrockneten Spermas in einem Uhrschälchen mit Salzsäure-Wasser, 1 Tropfen

---

[1]) Münchener med. Wochenschrift. No. 27. 1893.

[2]) Ungar, E., Zum Nachweis der Spermatozoen in eingetrocknetem Sperma. Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medicin. N. F. Bd. XLVI. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. VI. 1. No. 78. 1889.

auf 40 ccm Aq. destill. behandelt, indem man den Zeugstreifen nur mit einem Ende in die Flüssigkeit bringt. Nach $^1/_2$ Stunde bis 10 Stunden wird der Streifen, nachdem die Flüssigkeit abgetropft ist, wiederholt auf Objektträger oder Deckgläschen abgestreift. Man kann nun sogleich oder nach vorausgegangener Färbung an die Untersuchung gehen. Im letzteren Falle wird, sobald das abgestreifte Material lufttrocken ist, mit der Flamme fixirt und dann mit Eosin und Hämatoxylin 1 Stunde gefärbt.

Nach der Eosinfärbung lässt man das Präparat trocknen und spült es dann leicht in Drittelalkohol ab. Dann Färbung in Friedländer's[1]) oder Böhmer's Hämatoxylin. Der hintere Theil des Kopfes der Samenfäden erscheint dann dunkelblau, der vordere Theil und der Schwanz blau.

Einfacher ist es, die zu untersuchenden, in schmale Streifen geschnittenen Stoffe 1 bis mehrere Stunden in folgender Lösung:

Methylgrün	0,15—0,3,
Aq. destill.	100,0,
Salzsäure	3—6 Tropfen

zu lassen. Der hintere Theil des Kopfes wird dunkelgrün, der vordere Theil hellgrün, Mittelstück und Schwanz heller als der Kopftheil. Die Färbung kann auch auf Trockenpräparate angewandt werden.

Das Prostatasekret ist meist dem Sperma beigemengt, zuweilen wird es bei Druck auf die Prostata, bei Stuhlgang etc. auch für sich entleert. Es enthält ausser den geschichteten Amyloidkörpern oft eine grosse Zahl von octaëdrischen oder lanzettförmigen Krystallen, welche, ebenso wie die Asthmakrystalle im Bronchialsekret, das phosphorsaure Salz einer organischen Base, der sogenannten Schreiner'schen Base, darstellen. Sie sind seit langer Zeit im Sperma als Spermakrystalle bekannt; Fürbringer hat nachgewiesen, dass sie von dem beigemengten Prostatasekret herstammen, und dass sie die Träger des charakteristischen Samengeruchs sind. Oft sind sie schon in frisch entleertem Samen, resp. Prostatasekret nachzuweisen, in anderen Fällen erst nach längerem Stehen; stets entstehen sie in grosser Menge, wenn man zu Sperma oder Prostatasaft phosphorsaures Ammoniak zusetzt.

Sind die Samenflecke schwer erkennbar, wird zuerst als Voruntersuchung die Samenprobe nach Florence vorgenommen. Bei Zusatz einer starken jodhaltigen Jodkaliumlösung zu dem wässrigen Samenauszug entsteht eine Verbindung, die sich in Krystallen, welche eine gewisse Aehnlichkeit mit denen des Hämin haben, abscheidet. Zwar bilden sich diese auch in anderen Sekreten und Drüsenauszügen (Uterinschleim, Prostatasekret, Nebenniere); man wird aber immerhin gut thun, bei Samenuntersuchung unter gewissen Umständen (s. oben) zuerst die

[1]) Hämatoxylin 2,0,
Alkohol absol. 100,0,
Aq. destill. 100,0,
Glycerin 100,0,
Alaun 2,0,

Florence'sche Probe vorzunehmen, um sich bei negativem Ausfall dieser die vielleicht recht zeitraubende Untersuchung auf Samenfäden zu ersparen.

Trippersekret.

Im gonorrhoischen Eiter hat Neisser eine specifische Mikrokokkenart gefunden, die zumeist in kleinen Häufchen aggregirt, im Innern der Eiterkörperchen gelegen sind. Innerhalb der Häufchen sind sie gewöhnlich zu zwei gruppirt, und zwar in der Art, dass der einzelne Kokkus eine gewölbte und eine abgeflachte oder leicht concave Oberfläche hat und dass je zwei Kokken mit der abgeflachten resp. concaven Seite gegen einander gekehrt sind (vergl. Fig. 62 und 63, S. 210). Die Kokken sind relativ gross; ihre charakteristische Form und Lagerung dient zur Diagnose.

Auch im Sekret der gonorrhoischen Blenorrhoe der Conjunctiva findet man die charakteristischen Kokken.

Personen- und Sachregister.

A.

Abbe'scher Beleuchtungs-Apparat 1,2.
Abbe'scher Zeichenapparat 151.
Achsencylinderfärbung 275.
Adamkiewicz 275.
Adenom 343.
Aether 21.
Aethylenblau 118.
Agarkulturen, Färbung v. Schnitten 204.
Aktinomyces 234.
Alaun-Borax-Karmin 111.
Alaunkarmin 110.
Albertotypie 166.
Algeri 255.
Alkalien 24.
Alkohol 19, 41.
— essigsäure 50.
— härtung 54.
Altmann 53, 61, 103.
— Zellgranulationen 169, 170.
Altmann's Flüssigkeit 47.
Alvarez 222.
Ameisensäure 24.
Amidol 163.
Ammoniak 24, 36.
— Alaun 274.
— doppelt-chromsaures 42.
— Karmin 109.
— Lithionkarmin 112.
— molybdänsaures 38.
— pikrinsaures 287.
Ammoniumpikrat 287.
Amöben 238.
Ammonium bichromicum 42.
Ammoniummolybdat 288.
Amöboide Zellen 31.
Amyloid 177.
Amylumkörner 177.
Anämie 316.
Andeer 59.
Andrejew 328.
Anilin 139.
Anilinbraun 118.
Anilinfarben 117.
Anilinlacke 129.
Anilin-Safranin 118.
Anthrax 215.
Apathy, 97, 126, 287.
Apochromatische Objektive 4.
Apparat Hofmeister's 195.
Arbeitstisch 10.
Arnold 31, 294.
Aronson 302.
Ascitesflüssigkeit 28.
Aspergillus 237.
Asphaltverfahren 166.
Asthma 299, 333.
Asthmakrystalle 325.
Atrophie 174.
Aufbanden 100.
Aufbewahren 140.
Aufhellen 99, 136.
Aufkleben 67, 99, 100.
Aufnahme 159.
Auge 290.
Autotypie 166.
Azoulay 256.

B.

Babes, 118, 199.
Bach 256.
Bacillus des Abdominaltyphus 218.
— der Bubonenpest 215.
— der Cholera asiatica 231.
— der Diphtherie 230.
— Finkler Prior 233.
— der hämorrhagischen Septicämie 215.
— der Influenza 220.
— der Lepra 229.
— des malignen Oedems 217.
— des Milzbrands 215.
— murisepticus 215.
— der Pseudodiphtherie 231.
— pyocyaneus 215.
— des Rauschbrands 219.
— des Rhinoskleroms 214.
— des Rotzes 219.
— des Schweinerothlaufs 215.

Baeillus des Smegma 222.
— der Syphilis 221.
— des Tetanus 219.
— der Tuberkulose 223.
— der Xerose 231.
Bacterium coli commune 217.
— termo 215.
Badeplatten 162.
Bakterienfärbung 194, 201, 204, 207.
Bandwürmer 238.
Baranski 236.
Barfurth 181.
Barytwasser 36.
Base, Schreinersche 346.
Baumgarten 229.
— Darstellung der Mitosen 169.
Beale 110.
Beeker 151.
Behandlung der Sehnitte 92.
Beize, Löfflers 200.
Beizen 104, 126.
Beleuchtungslampe 10, 11, 12, 13.
Benda 124, 127.
Benda's Flüssigkeit 48.
Béneche 5.
Beneke 250, 318.
Berliner Blau 62.
Bernard 79, 80, 149.
Bergonzini 173.
Bianeo 45, 52.
Biedert 327.
Bignami 241.
Bild, photographisches 162.
Bildfläche 151.
Bindegewebskörper 37.
Bindesubstanzen 242.
Biondi-Ehrlich'sche Mischung 125, 256.
Birch-Hirschfeld 180.
Bismarckbraun 104, 117, 118.
Bizzozero 121.
Blau, Lyon 122.
Blende 13.
Bloehmann 69, 122.
Blut 293
— Fixirung 296.
— fremde Bestandtheile 318.
— erkrankungen 316.
— flecken 318.
— körper, rothe 298.
— körper, weisse 298.
— körper, Veränderungen der Gestalt, Grösse und des Inhalts 313.
— körper, Zählung 305.
— krystalle 318.
— plättchen 304.
— serum 28.
Bock 181.
Böhm 333.
Böhmer 114.
Borax-Blutlaugensalzlösung 267.
Born 92.
Boström 234.
Bouillard 306.
Bouvy 10.
Boveri 134.
Bromsilbergelatineplatten 162.
Brown, Molekularbewegung 186.
Bunge 199, 200, 222.
— Geisselfärbung 201.
Burckardt 46.

C.

Camera lueida 147, 150.
Canadabalsam 143.
Canelle 118.
Canon 220.
Carbolsäure 139, 144.
— Xylol 97, 140.
Carcinom 343.
Carotisdrüse 333.
Celli 239.
Celloidin 70.
Cellulose 179.
Centralnervensystem 252.
Centrifugiren 35.
Cereomonaden 349.
Chantemesse 218.
Charkot 316.
Chenzinsky 220, 303.
Chloroform 21, 143.
Chlorose 316.
Chlorsaure Salze 317.
Cholera 231.
Chromalaun 101.
Chromameisensäure 45.
Chromblei 62.
Chromessigsäure 37, 45, 50.
Chromessig-Osmiumsäure 37.
Chromgelatine 166.
Chromgemische 45.
Chromosmiumsalpetersäure 46.
Chromosmiumsäure-Eisessig 46.
Chrompikrinsalpetersäure 45.
Chromsalzsäurepalladiumchlorür 293.
Chromsäure 22, 37, 42.
Chromsäure (Entkalkungsflüssigkeit) 58.
Chromsäure-molybdänsaures Ammoniak 47.
Chromsäure-Salpetersäure-Alkohol 46.
Chromsaure Salze 22.
Chromsaures Ammoniak 37.
Chromsaures Kali 37.
Chrzonsczewski 66.
Claude Bernard 181.
Coceidien 238.
Cochenillekarmin 66.
Cohnheim 60, 131.

Collodium 70.
— Nelkenöl 102.
— Ricinusöl 102.
Colloid 176.
Combinationen 5.
Condensor s. Abbé'scher Apparat 1, 2.
Cornea 33.
Corpora amyloidea 179.
Corrosion 61.
Cox 260, 265.
Cramer 305.
Curettement 341.
Curschmann 326.
Cylinder, hyaline 339.
— wachsartige 339.
Cylindermikrotom 80.
Cysticercus 238.
Cystin 338.
Cystitis 215.
Czaplewski 192, 227.
Czokor 112.

D.

Dahlia 118.
Dahnen 327.
Damarlack 143.
Dannhäuser 11.
Darm 331.
— Parasiten 238.
Davalos 232.
Dawidoff 51.
Decidua 341, 342.
Deckglastrockenpräparat 35, 194.
Deckhuyzen 133.
Degeneration 174.
Delafield 115.
Determann 304.
Deycke 232.
Diamantfuchsin 117.
Differenziren 107, 191, 192.
Dinitroresorcinfärbung 280, 283.
Diphtherie 230.
Diplokokkus A. Fränkel-Weichselbaum 211.
— intracellularis 209.
— lanceolatus 211.
— pneumoniae 211.
Distomen 238.
Döderlein 341, 342.
Dogiel 287.
Donné 341.
Doppelfärbung 123. 193.
Doppelmesser 77.
Doutrelepont 221.
Dowdeswell, Geisselfärbung 202.
Drasch 131.
Drehscheibe 142.
Drittelalkohol 20, 36.
Drüsen, Bartholinsche 342.
Dunbar 331.
Dunkelzimmer 162.
Durchfärbung 105.
Durchtränkung 67.
Dysenterie 332.

E.

Eberth 33 215.
Ebner von 57, 228, 250.
Echinokkus 238.
Edinger, Zeichenapparat 151.
Ehrlich 115, 125, 225.
— -Biondi 125.
Einbetten 67.
Einhorn 299.
Einkitten 141.
Einklemmen 67.
Einschliessen 140.
Einschluss, feuchter 140.
— trockener 142.
Einschmelzung 74.
Einstich-Injektion 65.
Eisen 136.
Eisenchlorid-Dinitroresorcinfärbung 280.
Eisenchloridhämatoxylinfärbung 272.
Eisenhämatoxylin 127.
Eiweiss 69.
Eiweissglycerin 101, 103.
— Verfahren 166.
Elacin 247.
Elastin 248.
Elastische Fasern 243.
Eleïdin 289.
Endothel 242.
Endometritis hyperplastica 343.
Engel 297.
Englischbraun 118.
Entartung, amyloide 177.
— colloide 176.
— fettige 175.
— hyaline 176.
— schleimige 176.
Entfärben 103, 107, 191.
Entfettung 21.
Entkalken 56.
Entwickler 162, 264.
Entzündung 31.
Eosin 117, 119.
Eosinophile Zellen 199, 301.
Epithelzellen, Faserung 289.
Erb 314.
Erhitzen 53.
Erlicki 49, 253, 290.
Ermengem 201.
Ernst 199.
Erosion 343.
Erythroblasten 314.
Erythrocyten 314.
Essigsäure 22. 42.

Exner 274.
Expositionszeit 161.
Exsudate 334.

F.

Farbstoffe 104, 108.
Färben 103, 105.
Färbung, adjektive 126.
— Beschleunigung 190.
Färbung der Bakterien in Flüssigkeiten 194.
Färbung der Bakterien in Schnitten 201, 204.
Färbung, diffuse 104.
— doppelte und mehrfache 107.
— einfache 108, 193.
— elektive 104.
— getrennte 122.
— Gram'sche 107, 196.
— substantive 108, 126.
— Verstärkung 190.
— zweifache 193.
Farrant 141.
Fasern, elastische 243.
Feletti 295.
Ferreri 292.
Ferrocyankalium 182.
Fett 175.
Fettgewebe 242.
Feuchte Kammer 28, 29.
Fibrin 317.
Fibrinausgüsse 325.
Fibrincylinder 339.
Fibrinfärbung 318.
Finkler 233.
Fixiren 40, 53.
— der photographischen Platten 163.
Fixirungsflüssigkeiten 41, 45.
Flechsig 264.
Flemming 40, 50, 124, 126.
Flesch 37.
Flögel 100.
Florence, Probe 346.
Flormann 236.
Flüssigkeiten, Untersuchung 34.
Fluoresceïn-Alkohol 192.
Formol 44.
Fränkel, A. 211.
Fränkel, B. 226.
Francotte 92, 100.
Frenzel 52, 100.
Frettchenseuche 215.
Freud 278.
Friedländer 114, 121.
Fritsch 122.
Frosch, Schwimmhaut 31.
Froschlarve 31.
Fuchsin 104, 117.
Fuchsinfärbung, Pfeiffer 205.
Fuchsintinte 200.
Fürbringer 346.

G.

Gabbet 227.
Gabriczewski 181, 302, 304.
Gaffky 215.
Galeotty 177.
Galland 297.
Gallenkapillaren 332.
Gautier 241.
Gefässapparat 320.
Gefrieren 53, 55.
Gefriermikrotom 89.
Gehörorgan 292.
Geisselfärbung 200, 201.
Gelatine 100.
Gentianaviolett 104, 117, 118.
Geräthe 12.
Gerlach 278.
Geruchsorgan 293.
Geschlechtsorgane 340.
Geschlechtsorgane, weibliche 340.
Geschlechtsorgane, männliche 346.
Geschmacksorgan 293.
Giesebrecht 100, 101.
Giesenhagen 149.
Gieson van 177, 279.
Glasapparate 12.
Glaser 339.
Gläser, Reinigung 16.
Glaskörper 291.
Glasplatten 95.
Gliafärbung 282.
Glycerin 137.
Glyceringummi 141.
Glycerinleim 141.
Glycerinpräparate 141.
Glykogen 181.
Gold 130.
Goldbraun 118.
Goldchlorid 278, 285.
Golgi 132, 134, 260.
Gollasch 323.
Gonokokkus 210.
Gowers 305, 309.
Gräber 306.
Gram 169, 207, 208.
Grenacher 110.
Griesbach 296.
Guarnieri 239.
Gudden 68.
Gummi 69.
Gummi arabicum 100.
Gummisyrup 141.
Günther 195.
Guttapercha 100.
Guttmann 323.
Gyps 338.

H.

Hämalaun 116.
Hämateïn 114.
Hämateïnammoniak 116.
Hämatoidin 319.
Hämatoxylin 113.
— essigsaure Thonerde 128.
— Lacke 126.
Hämin 319.
Hämocytolyse 315.
Hämocytotrypsie 315.
Hämoglobin, Krystalle 319.
Hämoglobinämie 317.
Hämosiderin 182.
Härten 54.
Halbton-Heliotypie 166.
Hall 183.
Hamilton 56.
Hansen 115.
Harn 336.
Harncylinder 338.
Harngährung, ammoniakalische 337.
Harngährung, saure 337.
Harnkrystalle 336.
Harnorgane 336.
Harnsäure 337.
Harnsaure Salze 336.
Harnsaures Ammoniak 337.
Harnsaures Natron 337.
Harnsedimente 336.
Hartnack 7, 151.
Harzeinschluss 144.
Haug 57, 58, 111, 112, 128, 273.
Hauser 215, 342.
Haussmann 341.
Haut 288.
Hayem 239, 295, 306, 307.
Heerlein 16.
Hefepilze 237.
Heidenhain 126.
Heimann 259.
Heizbarer Objekttisch 5.
Held 258.
Heliographie 167.
Henocque 131.
Hermann 40, 53, 124.
Hertwig 51.
Herxheimer 244.
Hesse 39.
Heurck van 143.
Hofmann 181.
Hofmeister 339.
Hofmeister, Apparat 329.
Holzessig 37, 57.
Holzschnitt 164.
Homogene Immersion 3.
Hoyer 121, 176.
Hühnercholera 215.
Humor aqueus 28.
Hyalin 176.
Hydrocelenflüssigkeit 28.
Hydrochinon 264.
Hydrops 335.

I.

Immersion 3, 4.
Indigkarmin 66.
Indigoschwefelsaures Natron 66.
Infusorien 238.
Injektion 60.
— physiologische 66.
Injektionsapparat 63.
— Flüssigkeit 60.
— Masse 60.
— Spritze 63.
Instrumente 10.
Isoliren 35.
Israel 5, 236.

J.

Jaffé 181.
Jeserich 164.
Jod 108.
— Hämatoxylin 128.
— Kalium, Entfärbung 191.
— Reaktion 177.
— Schwefelsäure 178.
— Serum 28.
Johne 89.
Jordan 101.

K.

Kaiser 272.
Kali aceticum 138.
Kali bichromic. 42.
Kali bichromicum-Essigsäure 49.
— bichromicum-Natrium sulf.-Sublimat Essigsäure 50.
Kali bichromicum, Natrium sulfuricum 47.
Kali bichromicum-Osmiumsäure 49.
— bichromicum-Salpetersäure 48.
— bichromic.-schwefelsaures Kupfer Essigsäure 49.
— bichromic.-schwefelsaures Kupfer 49.
— caust. 36.
— Lauge 24, 36.
— Methylenblau 196.
Kalk, oxalsaurer 337.
— Wasser 36.
Kallius 264.
Kammer, feuchte 28.
Kampmann 167.
Kantorowicz 180.
Kapillarattraktion 103.
Karbolfuchsin 205.
Karbolmethylenblau, Kühnes 205.
Karmin 109.

Karmininjektion 61.
Karminleim 63.
Katz 292, 293.
Kautschuk 100.
Keratin 289.
Keratohyalin 289.
Kern 168.
Kernfärbung 104.
Kernschwarz (Nigrosin) 279.
Klaatsch 249.
Klebmasse 67, 100.
Kleinenberg 51, 296.
Klemmleber 67.
Knauer 17.
Knochen 249.
— Körper 37.
— Mark 251.
— Schliffe 250.
— System 249.
Koch 225.
Kochen 54.
Koch's Lampe 11.
Kochsalzlösung 19, 36.
König 17.
Köppen 246.
Körperchen, metachromatische 199.
Kohl 151.
Kollagenes Bindegewebe 242.
Kollmann 61.
Kolophonium 144.
Kolossow 134.
Kommabacillus 231.
Koristka 7.
Korolko 240.
Kraus 30.
Kreislauf 31.
Kreosot 139, 144.
Krogius 217.
Kühne 37.
Kühne 39, 188, 192, 227.
— Karbolmethylenblau 205.
Kulschitzky 49, 270, 281.
Kupferhämatoxylin 127.

L.

Labyrinth 292.
Laker 312.
Landois 38.
Lang 52.
Lanterman 248.
Lassar 11, 12.
Lautenschläger 17.
Laveran 239.
Lawdowsky 288.
Lealand 7.
Leber 332.
Leboucq 100.
Lehmann, J. 117.
Leim 69.
Leimmasse 62.
Leitz 7, 117.
Lenhartz 299.
Lenhossék von 259.
Leonhardis Tinte 179.
Leptothrix buccalis 236.
Letulle 228.
Leukämie 316.
Leukocytose 316.
Levulose 141.
Lewy 222.
Lichtdruck 166.
Lichtfilter 159, 161.
Lichtkupferstich 167.
Lichtquelle 155.
Lilienfeld 104.
Linse 291.
Löffler 192, 215.
Lösung, Löffler's 196.
— Ziehl's 205.
Löwit 5, 132, 285, 306.
Lubarsch 172.
Lugol'sche Lösung 177.
Luhme 17.
Lustgarten 221.
Lymphdrüsen 333.
Lymphocyten 299.

M.

Maceriren 35.
Magen 331.
Magensaft 38.
Magenta 117.
Maihak 167.
Malachitgrün 119.
Malariaplasmodien 238.
Malassez 308.
Malen 147.
Malignes Oedem 217.
Mallory 243, 280, 282.
Manchesterbraun 118.
Manchot 245.
Mandry 215.
Mann 53, 124.
Mannaberg 239.
Marchi 175, 255.
Marina 254.
Marineseu 132.
Markscheidenfärbung 266.
Marmorglas 10.
Martinotti 143, 245.
Mastzellen 248.
— Färbung 172, 173.
Matterstock 222.
Mayer, Paul 51, 61.
Mayet 306.
Mays 286.

Megaloblasten 313.
Megalocyten 313.
Meissner 243.
Melnikow-Raswedenkow 44.
Membranen, dysmenorrhoische 341.
Menstrualflüssigkeit 342.
Merkel 53.
Mesenterium 32.
Messen 147.
Metallimprägnation 130.
Metallinstrumente 17.
Methylenblau 104, 117, 118.
Methylenblaufärbung, vitale 129.
— Injektion 66.
— Methode Ehrlich's 286.
Methylgrün 117, 119.
Methylviolett 118.
Methode, doppelte, von Cajal 263.
Meyer 100.
Mibelli 245.
Micrococcus meningitidis 209.
— tetragonus 210.
— vesicae 209.
Mikrochemische Untersuchungen 18.
Mikroorganismen des Genitalapparates 341.
Mikroorganismen, epiphytäre 290.
Mikrophotographie 152.
Mikrophotographischer Apparat 152, 153, 154, 155, 157.
Mikroskop 1.
Mikrotome 76, 80, 81, 82, 87, 88.
Milch 345.
Milchsäure 57.
Miller 236.
Milz 333.
Möller, Sporenfärbung 199.
Milzbrandbacillus 216.
Mischung, dreifache 125.
Mischungen, zwei- und mehrfache 45.
Mischung, Ehrlichs 205.
Mitosen 168.
Moericke 343.
Molekularbewegung 186.
Moll 334.
Mononucleäre Uebergangsformen 299.
Morcheln 317.
Mosso 306.
Müller'sche Flüssigkeit 22, 47.
— Formol 48.
Muencke 17.
Muskeln 251.
Muskeln, quergestreift 37.
Muskulus 337.

N.

Nachbehandlung 107.
Nakarete 110.
Natronlauge 24.
Nannyn 233.
Nebenapparate 5.
Nebennieren 333.
Neelsen 328.
Negativ 163.
Negativ, photographisches, Entwicklung 162.
— Verstärkung u. Abschwächung 163.
— Lack 97.
Neisser 199.
Nekrose 174.
Nervenendigungen 285.
Nervensystem, centrales 252.
Nervensystem, peripherisches 284.
Neuroglia 281.
Neurokeratin 39.
Neuhaus 163, 164.
Neutralbraun 118.
Neutralroth 296.
Neutrophile Granulationen 306.
— Zellen 300, 303.
Nickelschalen 16.
Nigrosinfärbung 279.
Nikiforoff 275.
Nissl 117, 256, 257, 258.
Normoblasten 314.
Nötzel 285.
Norris 120.
Nucleine 104.

O.

Oberflächencollodionage 91.
Oberhäuser 151.
Obersteiner 285.
Objekt, lebendes 27.
Objekttisch, heizbarer 29.
— — von Flesch 30.
— — Israel 30.
— — Kraus 30.
— — Löwit 30.
— — Ranvier 29.
Objektivsysteme 3, 4.
Obregia 263.
Oeffnungswinkel 3.
Oele 138, 144.
Oel, Bergamott 144.
— Ceder 143.
— Eucalyptus 143, 145.
— Lavendel, 143.
— Nelken 144.
— Origanum 145.
— Terpentin 143.
Oidium albicans 322.
Okulare 5.
Oppel 333.
Orange 119.
— Färbung 126.

Orth 121.
Orthochromatische Platten 162.
Orth'sche Flüssigkeit 45, 48.
Osmiumessigsäure 52.
Osmiumgemische 52.
Osmiumsäure 43, 134.
— Tannin 52.
Oxalsäure 38.

P.

Pacini 295, 305.
Pal 128, 269.
Panizza 324.
Pankreas 39, 332.
Papiergummi-Collodiumplatten 98.
Pappenheim 296.
Paraffin 73.
— Einbettung 73.
Paraffin, überhitztes von Graf Spee 75.
Paraffinum liquidum 294.
Partsch 112.
Paul, H. 167.
Pepsin 38.
Perényi's Flüssigkeit 46.
Pertik 39.
Pfeiffer, Fuchsinfärbung 205.
Phenylenblau 118.
Phenylenbraun 118.
Philip 302.
Phloroglucin 59.
Phosphorsäure 57.
Phosphorsaure Ammoniak-Magnesia 337.
Phosphorsaurer Kalk 337.
Photographische Camera 154.
Photogravure 167.
Photoxylin 72.
Pigmententartung 184.
Pigmentirung 182.
Pikrinsäure 23, 42, 57, 117, 119.
Pikrineisessig 51.
Pikrinessigsäure 51.
Pikringemische 50.
Pikrin-Osmium-Essigsäure 51.
— Salpetersäure 51.
— Schwefelsäure 51, 296.
— Sublimat-Essigsäure 51.
Pikrokarmin 120.
Pincette, Cornets 195.
Placentazellen 342.
Plasmazellen 248.
Platinchlorid-Chromsäure 53.
— Gemisch 53.
— Osmiumessigsäure 53.
Plehn 220, 240, 294, 303.
Pneumonie-Bacillus Friedländer 212.
— Diplokokkus 211.
Pommer 250.
Posner 54.
Potain 305.
Powell 7.
Präparate, Nachbehandlung 193.
Präparirmikroskop 9.
Prazmowsky 7.
Prior 233.
Prostatasekret 346.
Proteus 215.
Protozoen 238.
Pseudodiphtheriebacillus 231.
Pseudoleukämie 317.
Pseudotuberkulose 229.
Pyrogallusentwickler 163.

Q.

Quilitz 17.
Quincke 182, 184.
Quittenschleim 102, 181.

R.

Rabl 40, 45, 123.
Ramon y Cajal 262.
Ranvier 120, 132.
Ranvier's Schnürringe 284.
Rath 51.
Rauschbrandbacillus 219.
Rawitz 45, 52, 116, 129.
Reagentien 18.
Recklinghausen, v. 132.
Reichert 7.
Reifen der Farbstoffe 105.
Rekurrensspirillen 233.
Renaut 123.
Respirationsapparat 320.
Retikulin 39.
Retina 291.
Retzius 132.
Revolver 5.
Rhinosklerom 214.
Ribbert 243.
Riffarth 166.
Ritter 328.
Rohrbeck 17.
Rosin 256, 259.
Ross 7.
Rotzbacillus 219.
Rousseau 143.
Rubin 117.
Ruge 345.
Russ 62.
Russel 170.

S.

Sadorsky 258.
Saenger 326.
Säuren 22.

Säureentfärbung 107, 191.
Säurefuchsin 117.
Säurefuchsinfärbung des Nervensystems 279.
Säuregrün 119.
Säurerubin 117.
Safranin 104, 117, 118.
— Anilinöl 118.
Sahli 277.
Salpetersäure 22, 37, 43, 58.
Salze, zur Entfärbung 191.
Salzsäure 22, 38, 57.
Samenflecken 346.
Sammeln der Präparate 147.
Sarcine 211
Sargdeckelkrystalle 337.
Schällibaum 100.
Schatten der r. Blutkörper 317.
Scheffer 250.
Schellack 100, 147.
Schiele 181.
Schilddrüse 333.
Schimmelbusch 33, 215.
Schimmelpilze 237.
Schleim 176.
Schleimbeutel 251.
Schlittenmikrotom 81.
Schmaus 112, 277.
Schneiden 76, 90, 91.
Schnirer 309.
Schnitte 90.
Schnittbänder 92, 97.
Schnittfärbung 201.
Schnittstrecker 91.
Schnitzler 215, 217.
Schönfeld 16.
Schreiner 347.
Schraubenschlittenmikrotom, Schanze 82.
Schröter 17, 147.
Schütz 215.
Schultze, Max 5.
Schusterkugel 10.
Schutzleisten 147.
Schutzleistenkitt 147.
Schwefelammonium 182.
Schwefelsäure 22, 37.
Schweineseuche 215.
Schwellung, trübe 175.
Segmente 284.
Sehnen 251.
Seibert 7.
Septicämie (Hüppe) 215.
Serienschnitte 94.
Seröse-Membranen 334.
Shakespeare 120.
Sharpey 250.
Sicheln 241.
Siderosis 182.
Siebdosen 16.
Siegfried 16, 39.
Silber 132.
Silberammoniak 61, 134.
Silber, salpetersaures 61.
Simmonds 232.
Smaragdgrün 129.
Smegmabacillen 222.
Smidt 323.
Soorpilz 322.
Soudakewitsch 246.
Spaink 280.
Spaltpilze 185.
—, Färbung 188.
Spatel 93.
Spee, Graf 75.
Speichelkörper 322.
Spektroskop 5.
Sperma 346.
Spiralen 325.
Spirillum des Rekurrensfiebers 233.
Sporenfärbung 198, 199.
Sprosspilze 237
Sputum 320, 321.
—, Verdünnung 327.
Stärkekörner 179.
Staphylococcus 208.
Stativ 1.
Steinach 16.
Steingutplatten 16.
Stenbeck 35.
Stender 17.
Stepanow 214.
Stichcanüle 65.
Stintzing 309.
Strasser 98, 100.
Stratum granulosum 289.
— lucidum 289.
Streptococcus 208.
— lanceolatus 211.
Stricker 5.
Ströbe 277, 285.
Strohschein 328.
Styrax 143.
Sublimat 43.
— gemische 52.
— Chromsäure 52.
— Eisessig 52.
— Essigsäure 52.
— Pikrinsäure 52.
— Pikrinsäure-Tannin 53.
— Salpetersäure 52.
Summers 94.
Syndetikon 147.
Syphilisbacillus 221.
Syré 17.

T.

Tänzer 244.
Tannin-Brechweinstein-Fuchsin 129.
Tauchmikrotom 85, 86.
Tavel 222.
Teichmann 319.
Tellyesniczky 49.
Terpentin 143.
Tetanus 219.
Thierische Parasiten 238.
Thoma 309.
Threlfall 100.
Tischplatten 10.
Toison 306.
Toluol 144.
Transparentseife 70.
Transsudatcylinder 339.
Traube 325.
Trautenroth 222.
Trenkmann, Geisselfärbung 201.
Triacidgemisch 125, 302.
Trichina 238.
Trichomonas vaginalis 341.
Trinitrophenol 119.
Tripelphosphat 337.
Trippersekret 348.
Trocknen 53, 54.
Trockenplatten 162.
Tropfapparat 79.
Trypsin 39.
Tuberkelbacillen 223.
— quantitative Bestimmung 328.
Typhusbacillus 218.
Tyrosin 338.

U.

Uebergangsformen der Leukocyten 299.
Ueberosmiumsäure 134.
Ultramarin 62.
Umfärbung 192.
Umgiessen 67.
Umranden 67, 141.
Ungar, Nachweis der Spermatozoen 346.
Unna 114, 242, 244.
—, Färbung des Keratohyalins 289.
—, Färbung der Plasmazellen 173.
Unterguss 101.
Untersuchungsmethoden 27.
Untersuchung entzündeter und wuchernder Gewebe 171.
Upson 278.
Utensilien 10.
Uterinflüssigkeiten 341.
Uteruskarcinom 341.

V.

Vaginalsekret 341.
Vanadium-Hämatoxylinfärbung 281.
Vasale 273.
Verdauung, künstliche 38.
Verdünnungsflüssigkeit 305.
Verfahren, Czaplewski's 197.
— gemischtes 261.
— Gram's 206.
— Gram-Günther 197.
— Meisenbach's 166.
— langsames von Golgi 260.
— rasches 261.
— Ribbert's 197.
Vergrösserung des Mikroskops 9.
Verkalkung 182.
Vervielfältigungsverfahren 164.
Vesuvin 118.
Vibrio der Cholera asiatica 231.
Vidal 218.
Vierordt 305.
Vogel 17.
Voit 337.
Vosseler 147.

W.

Walb 16.
Waldeyer 58, 292.
Waldstein 39.
Warmblüter 33.
Warmbrunn 17.
Wasser, destillirtes 18.
Weber 39.
Weichselbaum 336.
Weigert 95, 207, 247.
— Bakterienfärbung 208.
Weiss 302.
Welcker 305.
Wildseuche 215.
Winkel 151.
Winter 341.
Wittich 38.
Wolkowitsch 214.
Wolters 246, 273, 281.
Wolz 11.
Wyder 343.

X.

Xanthin 338.
Xerosebacillus 231.
Xylol 139, 144.

Z.

Zählapparat 307.
Zählung der Blutkörper 311, 312.
Zahl, der Blutkörper 311, 312.
— Aenderungen 315.
— der Blutplättchen 312.

Zahnröhrchen 37.
Zalefski 182, 183.
Zeichenapparat 5.
Zeichenfläche 151.
Zeichenpult 149.
Zeichentisch 147.
Zeichnen 147.
Zeiss 7, 151, 164.
Zelle 168.
Zellen, acidophile 173, 301,
— amöboide 31.
— basophile 173, 299, 300.
— eosinophile 299.
— neutrophile 300.
Zellgranulationen, Darstellung nach Altmann 169.
Zenker 50.
Ziehen 265.
Ziehl 328.
Ziehl'sche Lösung 205.
Ziehl-Neelsen 226.
Zimmermann 251.
Zimmtbraun 118.
Zinkhochätzung 164.
Zinnober 62.
Zunge, Frosch 32.
Zusatzflüssigkeit, indifferente 19.
Zwergblutkörper 314.

Druck von Albert Limbach, G. m. b. H., Braunschweig.